Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der Universität
Würzburg
Vorstand: Professor Dr. med. H. Schuermann

Über die Grundlagen der Spermatozoenmotilität, sowie experimentelle Untersuchungen zur Bewegung der Hodenspermatozoen.

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät
der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg
zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Wilhelm Freihoff
aus Recklinghausen

Würzburg 1956

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543524_0044

Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der Universität
W ü r z b u r g
Vorstand: Professor Dr. med. H. S c h u e r m a n n

Über die Grundlagen der Spermatozoenmotilität, sowie experimentelle Untersuchungen zur Bewegung der Hodenspermatozoen.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät
der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg
zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Wilhelm Freihoff
aus Recklinghausen

Würzburg 1956

Referent: Privatdozent Dr. R. D o e p f m e r
Korreferent: Professor Dr. H. S c h u e r m a n n

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Tag der mündl. Prüfung:
21. Dezember 1956.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg.

Meinem Vater in dankbarer
Verehrung

INHALTSÜBERSICHT

Seite

I. Einleitung und Fragestellung 1

II. Die drei Entwicklungsstufen der Spermatozoen 2

III. Methodik der experimentellen Untersuchungen an Hodenspermatozoen 6

1. Versuchstechnik 9
2. Fehlerquellen 13

IV. Die Grundlagen der Spermatozoenmotilität 16

A. Die Kontraktilität 16

a. Die kontraktilen Gewebe 21

1. Die Protoplasmaströmung 21
2. Die amöboide Bewegung 21
3. Die Kinozilien des Flimmerepithels 22
4. Die Geißeln und ihre Bewegung 23
5. Der Ablauf und das morphologische Substrat der Spermatozoenbewegung 24
6. Unterschiede und Gemeinsames in dem Bewegungsprinzip beim Skelettmuskel und Spermatozoon in entwicklungsgeschichtlicher Sicht 32

B. Biochemische Aspekte des Stoffwechsels und der Bewegung der Spermatozoen 34

a. Die Fruktolyse als Hauptenergiequelle der Spermatozoenbewegung bei verschiedenen Säugetieren 34

b. Die Spermatozoenatmung 37

c. Einzelkomponenten des Biochemismus von Sperma und Spermatozoen 38

1. Die Bildung von H_2O_2 im Sperma 38
2. Die Rolle der Citronensäure 39
3. Nucleinsäuren 39
4. Die Bedeutung des Adenosintriphosphates (ATP) für die Spermatozoenbewegung 40
5. Schwefelhaltige Verbindungen 41
6. Vitamine und Spurenelemente 41
7. Die Bedeutung einzelner Fermente und Fermentsysteme für Spermatozoen und Sperma 42

C. Die physiko-chemischen Grundlagen der Spermatozoenbewegung sowie eigene, experimentelle Untersuchungen zur Bewegung von Hodenspermatozoen - vorwiegend des Meerschweinchens 44

I). Einfluß der Temperatur und Temperaturänderung auf die Bewegung der verschiedenen Entwicklungsstufen der Spermatozoen 44

Seite

1. Die Beeinflussung der Spermatozoenbewegung durch die Temperaturänderung in vitro 44
2. Die Bedeutung bestimmter Temperaturen für die Spermatozoen in vivo 50
3. Zusammenfassung des Abschnittes I). 50

II). Die Wirkung der Konzentration des umgebenden Mediums auf die Spermatozoen und ihre Bewegung 50

a. Die Gesamtkonzentration 51
1. Der Einfluß verschiedener Konzentrationen vorwiegend niedermolekularer Substanzen auf die Spermatozoen und ihre Bewegung 51
2. Morphologische Beeinflussung der Spermatozoen durch Änderung der osmotischen Verhältnisse in der Suspension 55
3. Das Sperma bzw. die künstlich modifizierte Spermatozoensuspension als komplexes Kolloidgefüge 56
4. Elektrische Verhaltensweisen von Spermatozoen und Medien 57
i) Die Agglutination der Spermatozoen 59
5. Die Verdünnung mit echt gelösten Elektrolyten unter Wahrung der Isotonie der Spermatozoensuspension 62
6. Die Verdünnung der Spermatozoensuspension mit kolloidal gelösten Stoffen 64

b. Der Verdünnungsreiz 69

c. Der Einfluß der aktuellen Reaktion auf die Spermatozoenbewegung 71
i) Die Pufferung in Spermatozoensuspensionen 74

III). Über die Bedeutung von anorganischen Ionen für die Bewegung der Spermatozoen im Zusammenhang mit ihren vielfältigen Funktionen im allgemeinen Zellgeschehen 76

1. Die spezifische Ionenwirkung 76
2. Ionenantagonismus und -synergismus 78
3. Die komplexen physiko-chemischen Ioneneigenschaften als Voraussetzungen für die Wirkungen der Ionen auf die Spermatozoenbewegung 80
4. Morphologische Beeinflussung von Säugetierspermatozoen durch anorganische Salze 84
5. Über Vorstellungen bezüglich einer direkten Beteiligung anorganischer Ionen an dem chemo-physikalischen Mechanismus der Spermatozoenbewegung 86

V. Zusammenfassung 89

I. Einleitung und Fragestellung.

Zum Unterschied von allen anderen Zellen des menschlichen Körpers und der meisten höher entwickelten Tiere, ist das Spermatozoon zur aktiven, gerichteten Fortbewegung (Lokomotion) in geeigneten Flüssigkeiten befähigt. Die auf ihrer physiologischen Eigenart beruhende Sonderstellung im menschlichen und tierischen Organismus macht es verständlich, daß sich seit Leeuwenhoek und Ham die Naturwissenschaften in ihren verschiedenen Disziplinen mit dem "fesselnden Rätsel dieser omnipotenten Lebensträger (Granzow, 1932)" befaßten.

Darüberhinaus wird der Samen dadurch zu einem einzigartigen experimentellen Objekt, daß seine Zellen ohne sich zu teilen oder sich zu vermehren ein nahezu voneinander völlig unabhängiges Dasein führen. Der Körper liefert also im Sperma eine Suspension uniformer Zellen von einer genau definierbaren Menge, so daß eine Zuordnung der an der Gesamtsuspension beobachteten Erscheinungen auf die Einzelzelle möglich ist. Ein Einfluß auf die Lebenstätigkeiten des Spermatozoons durch Änderung der physikochemischen Situation von außen her prägt sich normalerweise auch in der Änderung von Intensität, Dauer und zuweilen auch in der Form der Bewegung aus und kann mikroskopisch direkt kontrolliert werden.

Da bis heute noch keine sicheren Beweise gegen die weit verbreitete Auffassung bekannt sind, daß zur vollen Befruchtungspotenz der Spermatozoen die volle Bewegungsfähigkeit oder zumindest aber eine progressive Bewegung Voraussetzung ist (vgl. v. Denmark u. Hays 1954), beansprucht die Spermatozoenbewegung notwendigerweise auch klinisches Interesse. Das umsomehr, je weiter man dem Gedanken nähertritt, zur Rettung von Ehen, die infolge einer Aspermie durch Verlegung der samenabführenden Wege steril sind, Spermatozoen des Ehemannes aus dem proximalen Teil des Nebenhodens oder gar aus dem Hoden künstlich zu übertragen.

Hierin liegt die Begründung der Fragestellung für diese Arbeit: Die allgemeinen Grundlagen der Spermatozoenbewegung aufzuzeigen und davon ausgehend zu untersuchen, ob von Natur aus schwach bewegliche Spermatozoen, wie die Hodenspermatozoen, bzw. unbewegliche Spermatozoen durch Veränderungen ihrer äußeren Bedingungen ohne Schädigung zu stärkerer Bewegung veranlaßt werden können.

II. Die drei Entwicklungsstufen der Spermatozoen.

Im allgemeinen werden drei Entwicklungs- oder Altersstufen von Spermatozoen unterschieden, die morphologisch und funktionell mehr oder weniger stark ausgeprägte Unterschiede aufweisen. Ejakulat- und Nebenhodenspermatozoen werden normalerweise als ausgereift bezeichnet. Die Ejakulatspermatozoen haben den Ductus deferens und die Harnröhre nach dem physiologischen Ablauf des Ejakulationsmechnismus verlassen und sind mit den Sekreten der accessorischen Geschlechtsdrüsen in Berührung gekommen.

Nebenhodenspermatozoen werden die in den gewundenen und gestreckten Teilen des Nebenhodens befindlichen Spermatozoen genannt. Sie werden, aus dem Hoden kommend, bis zur Ejakulation hier gespeichert und können bei Umgehung letzterer nur durch chirurgische Maßnahmen (Eröffnung des Duktus epididymis und Absaugen, oder durch Epididymektomie und nachfolgende Zerkleinerung des Praeparates und Auswaschen der Sperm.) gewonnen werden.

Über diese beiden Spermatozoenformen findet sich die bei weitem meiste Literatur. Das hat seinen Grund darin, daß sie für Experimente am leichtesten zugänglich sind. Die bisher aus dem Hodengewebe nicht völlig isolierbaren Hodenspermatozoen haben unvergleichlich viel weniger Beachtung gefunden. Sie unterscheiden sich von den Nebenhodenspermatozoen am auffallendsten dadurch, daß sie unter gleichen Bedingungen eine wesentlich herabgesetzte quantitative und qualitative Bewegung aufweisen (vgl. Abb. 1 und 2). Die Hodenspermatozoen werden durch Ausschwemmen exstirpierter und zerkleinerter ganzer Hoden, oder mittels Biopsie erhaltener Hodenteile gewonnen. Die Ausbeute an Spermatozoen bei der Hodenpunktion ist sehr gering (vgl. Große - Segerath, 1956).

Alle drei Entwicklungsstufen der Spermatozoen weisen im Stoffwechsel untereinander Abweichungen auf. Nach Milovanov (1933) sollen die Hodenspermatozoen erst im Nebenhoden die Fähigkeit zur anaeroben Glykolyse bekommen (vgl. Anderson, 1945; Moench, 1952). Lardy, Ghosh u. Plaut (1949) finden, daß Ejakulatspermatozoen eine hohe endogene Atmung aufweisen, die durch Glukosezusatz in Übereinstimmung mit den Befunden Henles und Zittles (1942) vermindert wird. Demgegenüber sollen frische

Nebenhodenspermatozoen des Bullen eine niedrige Quote endogener Respiration zeigen, die durch Zusatz von Glukose erhöht wird. Nach H e n l e und Z i t t l e (1942) sind Nebenhodenspermatozoen in der Lage, Kohlenhydrat zu oxydieren, während Ejakulatspermatozoen das nicht oder nur in einem geringen Ausmaß vermögen (vgl. M c L e o d , 1946). Weiterhin ist nach den Untersuchungen von L a r d y u. Mitarb. die Glykolyse der Ejakulatspermatozoen in Sauerstoffatmosphäre genau so groß wie in N_2-Atmosphäre, während bei Nebenhodenspermatozoen durch Sauerstoff die Glykolyse zurückgedrängt und die Atmung gefördert wird. M a n n (1949) stellt fest, daß die Unterschiede zwischen Nebenhoden- und Ejakulatspermatozoen noch weiterer Untersuchungen bedürfen.

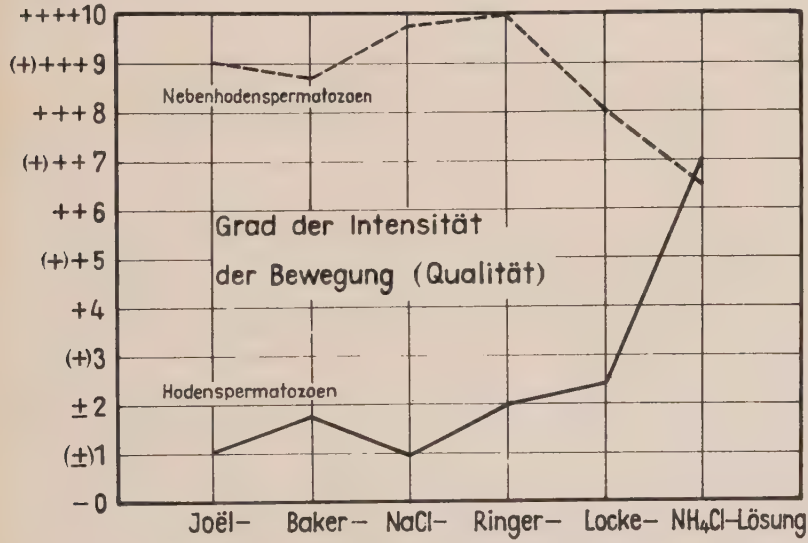


Abb. 1. Gegenüberstellung der Qualitäten der Bewegung von Hoden- u. Nebenhodenspermatozoen von Meerschweinchen bei einer Untersuchungstemperatur von 24 - 26° C und 3 ccm Lösung auf ½ Hoden bzw. Nebenhoden, aktuelle Reaktion der Suspensionen zw. p_H 6,1 u. 6,7. Als Qualität der Bewegung bezeichnen wir den Grad der Bewegungsintensität der am lebhaftesten sich bewegenden Sperm. nach der S. 8 gegebenen Einteilung.

Morphologisch ergeben sich Unterschiede zwischen Nebenhoden- und Ejakulatspermatozoen unter dem Lichtmikroskop dadurch, daß Hodenspermatozoen zum Teil am caudalen Abschnitt des Zwischenstückes einen

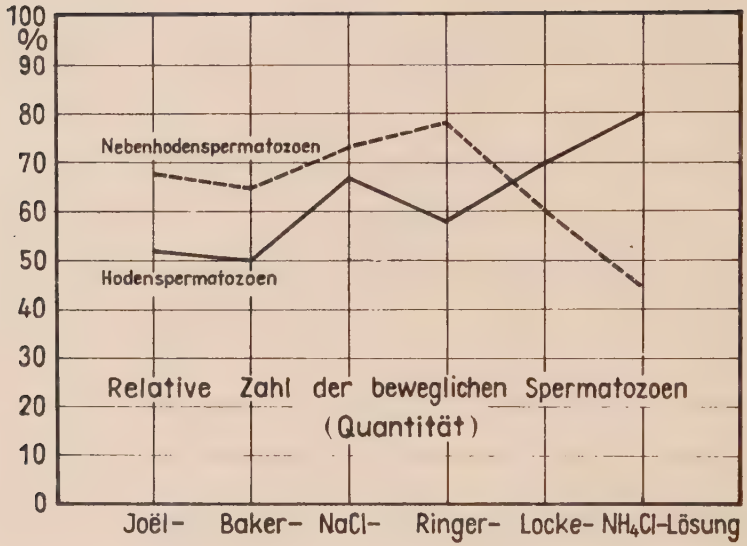


Abb. 2. Gegenüberstellung der Quantitäten der Bewegung von Hoden- u. Nebenhodenspermatozoen von Meerschweinchen bei einer Untersuchungstemperatur von 24 - 26° C, einer aktuellen Reaktion der Suspensionen zw. p_H 6,1 - 6,7 und 3 ccm Lösung auf ½ Hoden. Mit Bewegungsquantität bezeichnen wir das in Prozent angegebene Verhältnis aller überhaupt beweglichen zur Gesamtzahl der vorhandenen Spermatozoen in einem Gesichtsfeld des Mikroskops.

Protoplasmatropfen tragen, der bei Nebenhodensperm. durchweg fehlt, oder auf einen geringen Rest reduziert ist. Dieser Protoplasmatropfen (in der anglo - amerik. Lit. als " kinoplasmic droplet " bezeichnet) findet sich bei 20 - 30 % der Hodenspermatozoen (D o e p f m e r , 1955). Seine genaue Lokalisation und Größe ändert sich mit der Alterung bzw. der Wanderung der Spermatozoen durch Hoden und Nebenhoden. Bei Spermatozoen der Hodenperipherie (proximale Hodenabschnitte) ist er verhältnismäßig groß und sitzt hier am oberen Ende des Zwischenstückes bzw. am Halse. Er ist im Rete testis häufig, im Caput epididymis normalerweise immer verkleinert und läßt hier einen Zwischenraum zwischen sich und dem Spermatozoenkopf entstehen. Fast stets findet man im Kopf ein größeres, manchmal aber auch im ungefärbten Nativpräparat bei durchscheinendem Licht mehrere kleine vakuoläre Gebilde. Das von R e d e n z (1924) beobachtete leichte Abfallen

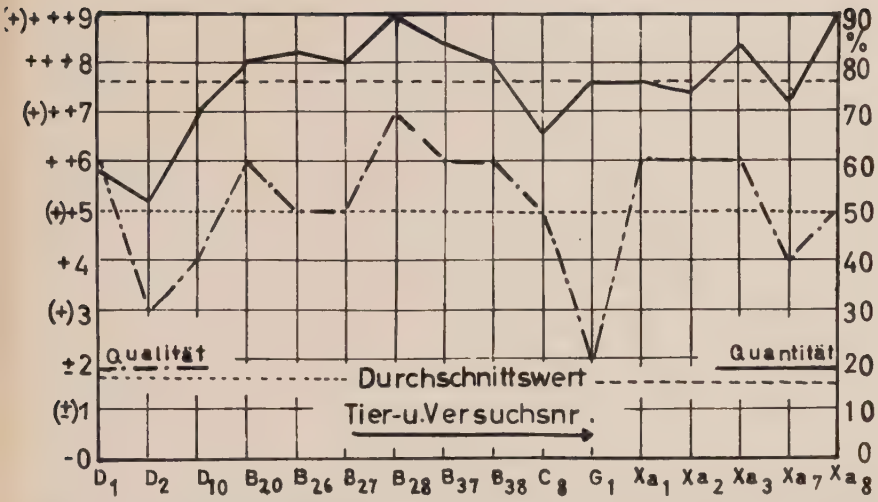


Abb. 3. Streuung der Bewegungswerte bei 16 verschiedenen Meerschweinchen. Untersuchungstemperatur 20 - 23° C, p_H 6,0 - 6,2, 3,5 ccm isot. NH_4Cl-Lösung auf ½ Hoden.

bei geringen Schwankungen des osmotischen Druckes in der Suspension wurde in unseren Versuchen nicht deutlich. Ein positiver Einfluß auf Dauer und Qualität der Bewegung schien uns möglich; jedoch waren hierüber keine eindeutigen Zahlen zu gewinnen, da die Versuchsergebnisse infolge zu geringer Unterschiede nicht signifikant waren. Die hier für Meerschweinchenspermatozoen diskutierten Verhältnisse sollen bei anderen Säugetieren und beim Menschen sehr ähnlich sein (K n a u s , 1954; B e l o n o s c h k i n , 1949). B e l o n o s c h k i n entnimmt seinen Versuchsergebnissen, daß der Protoplasmatropfen der Hodenspermatozoen keine Schutzfunktion habe. Seine Wanderung auf dem Zwischenstück ist nach R e d e n z für die Bewegung an sich keine notwendige Voraussetzung. Ein möglicher Zusammenhang mit den Reifungsvorgängen bedarf noch der Klärung (M a n n , 1949). Die Funktion ist also unbekannt. Aus den Lokalisationsänderungen lassen sich die Hodenspermatozoen lichtmikroskopisch noch in Spermatozoen der Hodenperipherie und des Rete differenzieren.

Neuerdings wies B r e t s c h n e i d e r (1955) elektronenoptisch strukturelle Unterschiede zwischen Hoden- u. Nebenhodenspermatozoen des Stieres nach. Bis dahin galt die Lokalisationsänderung des Proto-

plasmatropfens als einziger morphologischer Unterschied zwischen diesen beiden Entwicklungsstufen. R e h f i s c h (1898) stellte bereits fest, daß sich Spermatozoen aus dem Hoden bewegen können. R e d e n z (1924) konnte die Bewegung von Spermatozoen aus dem Rete testis von Stier, Hammel, Eber und Ziegenbock mit einer Lösung, die NaOH, $NaHCO_3$, Na_3PO_4 "in geeigneter Dosierung" enthielt, kurzzeitig beträchtlich steigern. Dieses Versuchsergebnis bestätigte S i g l e r (1955) für Bullenhodenspermatozoen. Die erforderliche Wasserstoffionenkonzentration lag jedoch in diesen Versuchen so hoch (zwischen p_H 9.5 u. 10.5), daß eine deutliche Veränderung der Suspensionskolloide in Form von Koagulationserscheinungen und allgemeiner Viskositätserhöhung festgestellt werden mußte. Eine beträchtliche Alteration der Spermatozoen selbst ist damit höchstwahrscheinlich. G r a y (1920b) wies durch Färbung mit Neutralrot nach, daß das Zellinnere von Spermatozoen, die durch Alkali zur Agglutination gebracht werden, durch dieses Alkali eine deutliche Veränderung erfährt. Dazu scheint die kurze Dauer der von R e d e n z und S i g l e r erzielten Bewegungssteigerung, der alsbald völlige Bewegungslosigkeit der Spermatozoen folgt, die Toxizität einer derartigen Lösung zu bestätigen. B e l o n o s c h k i n (1942/48) stellte unter Verwendung von NaCl-Lösung fest, daß die sogenannte "Lebensdauer" der Hodenspermatozoen des Menschen höchstens drei Stunden beträgt. In dieser Arbeit wird demgegenüber nachgewiesen, daß bei Verwendung bestimmter Suspensionslösungen die Hodenspermatozoen verschiedener Säugetiere und des Menschen hinsichtlich der Qualität und Dauer ihrer Bewegung in vitro überraschend viel leistungsfähiger sind, als bis heute offenbar allgemein angenommen wird.

III. D i e M e t h o d i k d e r e x p e r i m e n t e l l e n U n t e r s u c h u n g e n a n H o d e n s p e r m a t o z o e n .

Es gibt bis heute keine praktisch brauchbare Methode, die Bewegungen von Spermatozoen exakt zu messen. Die Untersucher sind auf den subjektiven Eindruck und auf Schätzungen angewiesen. Es ist daher kaum möglich, die Größe der qualitiven Motilität, sowie die der kaum völlig erfaßbaren individuell variablen übrigen Spermatozoeneigen-

schaften mit den quantitativen Maßzahlen des Stoffwechsels, der Lösungsverhältnisse, des p_H usw. in eine befriedigende mathematische Beziehung zu setzen.

Den subjektiven Fehler und sonstige, sich aus der Methodik ergebende Fehlerquellen (vgl. S. 13) bei der Beurteilung der quantitativen Motilität schränkten wir dadurch ein, daß wir nur die sich bewegenden Spermatozoen bei den Zählungen berücksichtigten. Die bewegungsfähigen ruhenden Spermatozoen wurden also von den unbeweglichen im mehr oder weniger ausgeprägten praemortalen Stadium befindlichen Spermatozoen nicht unterschieden. Eine Differenzierung wäre durch den Eosintest (B l o m , 1950; H e i n k e , 1951; T h e i n , 1956) möglich gewesen; sie wurde aber, da es die Fragestellung unserer Untersuchungen nicht erforderte, mit Rücksicht auf eine Vereinfachung der Technik nicht durchgeführt.

Es erwies sich, daß sogar qualitative Angaben wie über Temperaturen bei Untersuchungen, Zustand und sogar Art der Versuchstiere, Substanzmengen usw. besonders in den älteren Arbeiten oft unvollständig und unklar sind, so daß bei Vergleichen die Schlüsse unsicher sind.

Infolgedessen gerät das Ergebnis neuer exakter quantitativer Untersuchungen in ein ungünstiges Verhältnis zum Aufwand, da es in vielem besonders von den in der älteren Literatur veröffentlichten Befunden isoliert wäre. Wir haben versucht, hier einen Mittelweg zu finden, indem wir unter Berücksichtigung der Vergleichbarkeit mit derartigen Arbeiten von den bisher üblichen Untersuchungsmethoden ausgingen und nur durch Ausbau dieser Methoden und durch Erweiterung und Standardisierung der Angaben zu einer möglichst weitgehenden Objektivierung der Ergebnisse zu kommen versuchten.

Aus Untersuchungen von A n d e r s o n (1945), M c L e o d und G o l d (1951) u.a. ergibt sich zwingend, daß neben der Qualität der Bewegung auch die Quantität, der Prozentsatz der sich bewegenden Spermatozoen, als Motilitätskriterium berücksichtigt werden muß. Zur Bestimmung der Qualität der Bewegung benützen wir eine Zeichenfolge, die sowohl den klinischen Anforderungen zur Aufstellung von Spermatogrammen (D o e p f m e r , 1954) als auch den minimalen Bewegungsintensitäten von Hodenspermatozoen Rechnung trägt.

Die hier aufgeführte Zeichenfolge dient der Benennung und Bewertung von Spermatozoenbewegungen verschiedener Intensität. Sie erfaßt

alle Bewegungsgrößen sowohl der Hoden- und Nebenhoden-, als auch der Ejakulatspermatozoen:

0	Keine Bewegung.
1 (±)	Periodische, ruckartige, ganz geringgradige oszillatorische Bewegung des Schwanzes.
2 ±	Stetige oszillatorische Bewegung.
3 (+)	Starke oszillatorische Bewegung des Schwanzes.
4 +	Kräftige Schwanzbewegung aber keine Vorwärtsbewegung.
5 +(+)	Kräftige Schwanzbewegung mit zeitweilig träger Vorwärtsbewegung und einseitigen Schwanzschlägen.
6 ++	Langsame, zum Teil kreisförmige und irrende Vorwärtsbewegung bei meist einseitigen Schwanzschlägen.
7 ++(+)	Langsame, aber konstante gerade Vorwärtsbewegung bei einseitigen Schwanzschlägen.
8 +++	Lebhafte Vorwärtsbewegung ohne seitliche Abbiegung des Schwanzes bzw. einseitige Schwanzschläge.
9 +++(+)	Sehr lebhafte geradlinige Vorwärtsbewegung ohne Pendeln des Kopfes.
10 ++++	Sehr lebhafte gradlinige Bewegung in Höchstgeschwindigkeit, wie man sie in Ejakulaten hochfertiler Menschen und Tiere bei Temperaturen von 38^0 C und einem p_H zwischen 7 u. 8.5 beobachten kann.

Die Versuchstechnik wurde in Zusammenarbeit mit R. D o e p f m e r und W. G r o ß e - S e g e r a t h entwickelt, die die Untersuchung über die Konzentration der Hodenspermatozoen durchführten. Hierdurch gelang es, die optimalen Bedingungen für maximale Quantität, Qualität und Dauer der Motilität mit denen für eine möglichst hohe Konzentration der Spermatozoen in der Suspension zu verbinden.

Die wenigen, einigermaßen vollständig in der Literatur angegebenen Versuchsanordnungen, beziehen sich in der Hauptsache auf die Arbeit mit Nebenhoden bzw. Ejakulatspermatozoen und reichen für die Untersuchung der Hodenspermatozoen einzeln sicherlich nicht aus. (Bezügl. Versuchstechnik vgl.: H i r o k a w a (1909), R e d e n z (1924), B e l o n o s c h k i n (1942), K a t s c h (1938), S c h i n z und S l o t o p o l s k y (1938), J o e l und P o l l a k (1939) Y o u n g (1931), A n d e r s o n (1945)).

Die Herstellung der verschiedenen Testlösungen wurde z.T. nach den

Angaben von L a n d o i s - R o s e m a n n (1943), v. M u r a l t (1944) und den "Wissenschaftlichen Tabellen" von G e i g y (1953) vorgenommen. Die Isotonie eines großen Teils unserer Lösungen berechneten wir nach der Formel für die Molekulargewichtsbestimmung aus der Gefrierpunktserniedrigung:

$$M_i = \frac{G_i \cdot 1000}{G_L \cdot Ag_i} \cdot Kg_i \quad \text{bzw.} \quad G_i = \frac{M_i \cdot G_L \cdot Ag_i}{Kg_i \cdot 1000}$$

G_i ist das Gewicht des isotonisch zu lösenden Stoffes, M_i ist sein Molgewicht, Ag_i ist die Gefrierpunktserniedrigung des Blutes, Kg_i ist $1{,}86^0$, die Gefrierpunktsdepression für ein Mol eines nicht dissoziierenden Stoffes in Wasser. Für dissoziierende Stoffe ist $kg_i = n \cdot 1{,}86^0$, wobei n die Anzahl der Ionen bedeutet, in die der sich lösende Stoff zerfällt; G_L ist das Gewicht des Lösungsmittels plus des gelösten Stoffes.

In erster Näherung liefert obige Gleichung brauchbare Werte, da die durch interionische Wechselwirkung hervorgerufenen Abweichungen von der v a n t ' H o f f ' s c h e n Gleichung die Gefrierpunktserniedrigung sowohl des Blutes als auch des isotonisch zu lösenden Stoffes betreffen und annähernd gleich groß sind (vgl. S. 15, 82).

1. Versuchstechnik.

Es wurden die Hoden von 176 Meerschweinchen, 19 Ratten, 6 Hunden und 5 Menschen untersucht. Von jedem Hodenpaar wurden 4 bis 8 verschiedene Suspensionen, im ganzen etwa 1300 Präparate gewonnen. Insgesamt wurden 190 hinsichtlich relativer und absoluter Konzentration verschiedene Lösungen von (hauptsächlich elektrolytischen) Stoffen und Stoffkombinationen auf ihre Wirksamkeit auf die Bewegung der Hodenspermatozoen geprüft.

Die meisten Untersuchungen wurden an Meerschweinchen vorgenommen. Diese töteten wir durch Nackenschlag, Hunde durch Luftembolie. Es erwies sich als zweckmäßig, danach einige Minuten zu warten, bis die Reflexbereitschaft des Tieres nachgelassen hatte, da häufig bei Berührungen der Bauchdecke agonal eine spontane Ejakulation erfolgte.

Beim Auspräparieren der Hoden mußte darauf geachtet werden, daß der Ductus deferens nicht zu kurz hinter der Cauda epididymis abgetrennt und Nebenhodeninhalt auf der Hodenoberfläche verschmiert wurde. Eben-

so durfte auch der Nebenhoden nicht angeschnitten werden, damit keine Nebenhodenspermatozoen in die Hodensuspension gerieten. Wurden Hoden oder Nebenhoden nicht sofort verarbeitet, befreiten wir sie von allen anhaftenden Bindegewebs- und Muskelresten; denn ihr Verbleiben schädigt die Motilität schon in wenigen Stunden beträchtlich. Ihre Aufbewahrung erfolgte im Kühlschrank bei 4 - 5° C in einer geschlossenen Petrischale, eingebettet in eine mit isotonischer Na Cl-Lösung durchtränkten Mullage. Ohne allzugroße Schädigung der Motilität konnten die Hoden unter diesen Bedingungen bis zu 8 Stunden und länger aufbewahrt werden, während bei Belassen im getöteten Tier nach längstens 5 Stunden weitgehende Motilitätsverluste hinsichtlich Qualität, Quantität und Dauer sichtbar wurden (vgl. Abb. 4).

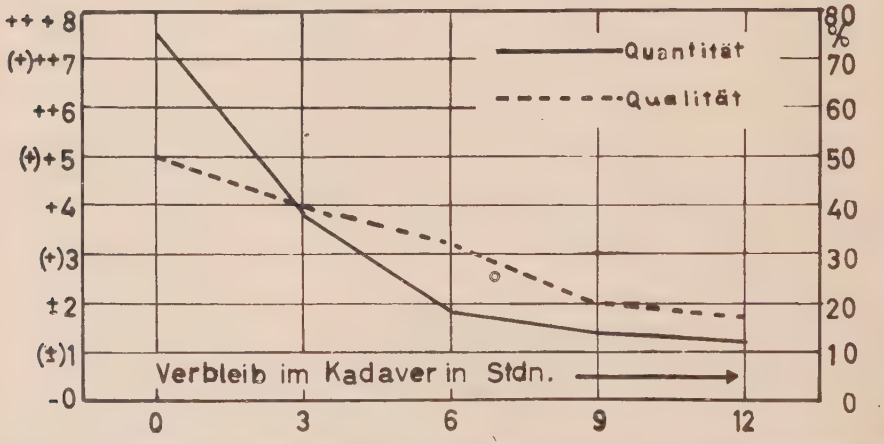


Abb. 4: Reduktion der Qualität und Quantität der Initialbewegung von Hodenspermatozoen infolge verschiedenlangen Verbleibens der Hoden in den getöteten Meerschweinchen, die nach Verlust der Lebenswärme bei Temperaturen zwischen 12 u. 18° C aufbewahrt wurden (3.5 ccm isot. NH_4Cl-Lösung auf ½ Hoden, p_H 6,0 - 6,2, Untersuchungstemperatur 20 - 23,4° C).

Die Trennung des Nebenhodens vom Hoden erforderte Vorsicht, da sowohl die Cauda epididymis (Corpus und Caput epididymis sind in einem Corpus adiposum wechselnder Größe verborgen) als auch der Hoden, der beim Meerschweinchen nicht diese starke Tunica albuginea wie etwa bei Menschen- und Hundehoden besitzt, sehr leicht angeschnitten werden können. Durch die leichte Lufttrocknnng nach der Enukleation wurde das dünne, den Hoden und Nebenhoden überziehende Periorchium deut-

lich sichtbar. In der Gegend der Cauda epididymis (erkennbar an der grau-weißlichen Auftreibung des hier aufgeknäuelten, fast immer gefüllten Duktus epididymis) wurde es aufgeschlitzt und mit einer feinen Schere zu beiden Seiten des Corpus epididymis bzw. des Fettkörpers aufgetrennt. Sodann konnte der ganze, vom Hoden hier durch eine dünne Haut anstelle der Tunica albuginea getrennte Nebenhoden bis auf seine Verwachsung am Retepol ohne Verletzung des Hodens abgehoben werden. Der Übergang vom Hoden zum Nebenhoden wurde dann erst durchtrennt. Aus dem Hodenpaar eines Tieres wurde, nachdem das Gewicht bestimmt worden war, eine Versuchsreihe abhängig von der Fragestellung mit je vier oder acht verschiedenen Suspensionen gewonnen. War z.B. eine Versuchsreihe von acht Suspensionen erforderlich, so wurde auf einer chemisch reinen, sterilen Glasplatte jeder Hoden zunächst mit einem Schnitt von Pol zu Pol möglichst genau halbiert. Sodann wurde jede dieser Hälften in der gleichen Weise in vier Streifen geteilt und jeder dieser Streifen senkrecht zur vorigen Schnittführung halbiert. Auf diese Weise entstanden von jedem Hoden acht nahezu gleichgroße Teile. Darauf wurde je ein Stückchen des einen Hodens aus der Nähe des oberen Poles (Rete) mit einem Stückchen des anderen Hodens (vgl. Abb. 5) aus der Gegend des unteren Poles (Peripherie) zusammen in ein vorbereitetes Spülbad gebracht, in dem evtl. äußerlich noch anhaftende Nebenhodenspermatozoen durch Eintauchen und mehrmaliges Schwenken mit der Pinzette beseitigt wurden. Dann kamen die Hodenstückchen in die Testlösung, die in den anderen Teil der Petrischale, mit einem Querschnitt von 4 - 5 cm, vorher einpipettiert worden war.

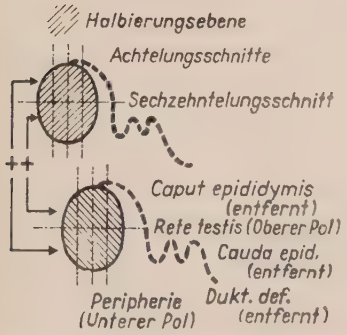


Abb.5: Präparationsmodus eines Hodenpaares (s. Text)

Als optimal fanden wir durch Versuche eine Lösungsmenge von 1,5 - 2 ccm pro 1/4 Hoden bzw. 3 - 4 ccm pro 1/ 2 Hoden. Die Lösungsmenge wurde innerhalb dieser Grenzen je nach Gewicht des Meerschweinchenhodens variiert (Gewicht eines Hodens im Durchschnitt 1,2 g). Insbesondere mußten bei den Untersuchungen der Ionenwirkungen Spül- und Testlösungen gleich sein. Durch 50 - 70 Schläge (je nach Hodengewicht vari-

iert) einer feinen Schere wurden die Hodenteile zerkleinert und die so gewonnene grobe Suspension aus der Petrischale durch einen Trichter (Ø 2 - 3 cm) über ein doppelt gelegtes Stückchen sterilen Mulls von entsprechender Größe in ein Reagenzgläschen von 5 cm^3 Rauminhalt dekantiert. Der Mullfilter, der die groben Hodengewebspartikel zurückhielt, wurde mit chemisch reinem, sterilem Glasstab an der Trichterwand leicht ausgedrückt. Im Gegensatz zu der Beobachtung G r a n z o w s (1932) zeigte sich, daß durch die Entfernung der groben Gewebsteile die Initialbewegung in verschiedenen Testlösungen sich bedeutend erhöhte, während die Bewegungsdauer allerdings etwas herabgesetzt wurde. Sodann wurde mit B a y e r - bzw. Lyphan-Indikatorpapier der p_H - Wert in sämtlichen Suspensionen gemessen und sogleich die erste mikroskopische Kontrolle der Bewegung vorgenommen. Darauf wurden die Reagenzgläschen mit in der entsprechenden Testlösung befeuchteter Watte mit Rücksicht auf den Gaswechsel jedoch nicht zu fest verschlossen. Da gründliches Spülen und Trocknen von Pipetten, Scheren und den übrigen Instrumenten während des Versuchs zuviel Zeit erforderte, wurden für die einzelnen Suspensionen jeweils besondere Instrumente benutzt. Trotzdem vergingen von der Tötung des Versuchstieres bis zur ersten Kontrolle unter dem Mikroskop durchschnittlich 20 - 30 Minuten. Bei diesen Kontrollen wurde darauf geachtet, daß die Temperatur der Objektträger und Deckgläschen, die chemisch rein waren, nicht unter der Temperatur der Suspension lag. Zur Untersuchung wurde mit einem chemisch reinen, sterilen Glasstab oder einer Metalloese ein Tropfen Hodensuspension nach kurzem Umrühren aus dem Reagenzglas auf den Objektträger gebracht, mit einem Deckglas abgedeckt und sofort unter spiral- oder mäanderförmiger Bewegung des Kreuztisches durchmustert. Das zu den hier beschriebenen Untersuchungen benutzte Mikroskop war ein Zeiß-Winkel "Junior" Monokular mit Fußleuchte unter dessen Kreuztisch für die Wärmeversuche ein Richter-Heiztisch angebracht wurde.

Die Quantität der Bewegung wurde bestimmt, indem insgesamt 50 Spermatozoen ausgezählt wurden. Hierbei wurde nur zwischen sich bewegenden und völlig regungslosen Spermatozoen ohne Rücksicht auf die Qualität der Bewegung unterschieden. Die Qualität der Bewegung wurde durch diejenigen Spermatozoen, die die größte Bewegung zeigten, ohne Rücksicht auf ihre Zahl bestimmt. Für einen Protokollwert wurde die Motilität durchweg in 2 verschiedenen Entnahmen aus der gleichen Sus-

pension je zweimal bestimmt. Nach dem Prinzip der statistischen Mehrfachmessung ergaben die entsprechenden Protokollwerte von 3 - 20 Versuchsreihen unter gleichen Bedingungen einen Kurvenwert.

Die Raumtemperatur, die Temperatur der Suspensionen, sowie die Untersuchungstemperatur wurden laufend kontrolliert.

2. Fehlerquellen.

Die Fehlermöglichkeiten sind in 2 große Gruppen einzuteilen: in die allgemeinen Fehler, die durch das Versuchstier in den Versuch eingebracht werden und großenteils dem Zufall unterliegen und in die methodischen Fehler, die durch den Versuch und den Untersucher entstehen.

I) Allgemeine Fehler.

a) Der einschränkbare allgemeine Fehler.

Der einschränkbare allgemeine Fehler ergibt sich aus der wechselnden Kondition der verschiedenen Versuchstiere und den damit zusammenhängenden Hodenzuständen. Die Meerschweinchen, deren Hoden bei den hier beschriebenen Untersuchungen Verwendung fanden, kamen nicht gleich nach der Ankunft aus der Züchterei auf den Sektionstisch, sondern wurden zunächst, von Weibchen isoliert einer Art Quarantäne unterworfen. Das heißt, daß sie mindestens 4 Wochen lang in eigenen Ställen unter für alle Tiere gleichen Bedingungen (Futter, Temperatur von ca. 25° C, Belichtung, Auslauf) gehalten wurden. Die Zeit (Jahreszeit!), während der die Versuche im wesentlichen durchgeführt wurden, erstreckte sich von Oktober 1954 bis März 1955 (infolge des milden Winters verhältnismäßig konstante Aussentemperaturen). Während der "Quarantäne"wurde soweit als möglich der Gesundheitszustand der Tiere kontrolliert. Tiere, deren Hoden histologisch oder mikroskopisch sichtbar degenerative oder sonstige Veränderungen zeigten, bzw. die im Kontrollversuch ein nicht normales Suspensionsbild aufwiesen (etwa 8 %), wurden ausgemerzt. Ein weiterer Teil der konditionellen Fehlerquellen wurde dadurch ausgeschaltet, daß nur Tiere oberhalb eines bestimmten Gewichtes (600 g) und eines bestimmten Alters (6 Monate) zum Versuch herangezogen wurden. Die zuweilen zwischen den Hoden ein und desselben Tieres auftretenden Unterschiede wurden durch

die Präparationstechnik (s.o.) weitgehend ausgeschaltet. Als Kontrollversuch wurde bei jeder Versuchsreihe je 1/8 des Hodenpaares eines Tieres in 1,5 - 2 cm^3 (je nach Gewicht) NH_4 Cl-Lösung auf Wasserstoffionenkonzentration, quantitative und qualitative Motilität und bei einigen Versuchen auch auf Dauer der Bewegung mitbeobachtet.

b) Der unkontrollierbare allgemeine Fehler.

Ein Teil der von Hodenkrankheiten befallenen Tiere konnte auf Grund histologischer Untersuchungen ausgemerzt werden.

Geringgradige Spermatogenesehemmungen wurden jedoch nicht erfaßt.

Um wenigstens innerhalb jeder Versuchsreihe (3 bzw. 7 Versuchssuspensionen + 1 Kontrollversuch) ungestörte Proportionalität zwischen den Einzelversuchen zu erzielen, wurden zu einer Reihe jeweils die Hoden eines Tieres verwendet. Da jedoch in jedem Tabellenwert die Protokollwerte von mindestens drei, bei sehr vielen aber von 10 - 20 und bei Versuchen in isotonischer NH_4Cl-Lösung (p_H 5,9) von über 60 Versuchstieren zusammengefaßt wurden, gerät dieser Fehler notwendigerweise mit in das Endergebnis.

II) Die Fehlerquellen der Methodik.

a) Ablesung.

Spermatozoen, die untereinander agglutiniert oder mit Hodenzellen irgendwie verhaftet waren, wurden nicht berücksichtigt. Ebenso unberücksichtigt blieben die Randzonen des Deckglaspräparates, da hier durch Verdunstung und Eintrocknung Konzentrationsänderungen der Suspension sich zuerst auswirkten. Darum wurden die Präparate auch spiralförmig vom Deckglasrand zur Mitte hin untersucht.

b) Verteilungsunterschiede.

Trotz Umrührens kam es zuweilen vor, daß man mit dem Glasstab bzw. der Metalloese fast nur bewegungslose Spermatozoen auf den Objektträger brachte, während in den Reagenzröhrchen verhältnismäßig viel bewegliche waren. Dieser Schwierigkeit suchten wir dadurch zu entgehen, daß wir (s.o.) zu einem Protokollwert immer mindestens zwei Entnahmen aus dem Reagenzglas kontrollierten.

c) Der subjektive Fehler.

Die Beurteilung der Qualität der Bewegung ist ausschließlich dem subjektiven Eindruck unterworfen. Trotzdem konnte nach viermonatigen, täglichen Untersuchungen durch zwei Untersucher eine weitgehende Übereinstimmung der Ergebnisse erreicht werden:

Die Unterschiede betrugen bezüglich der Quantität der Bewegung nie mehr als 4 - 8 % und bei der Qualität nicht mehr als eine Stufe unserer Einteilung (s.S. 8).

d) Zeit.

Die Aufbereitung der Hoden bis zur Kontrolle des ersten Präparates nahmen durchweg 30 Minuten in Anspruch.

e) Geräte.

Der Fehler, der durch evtl. fehlerhafte Pipetten, Meßgeräte usw. entstehen konnte, wurde zunächst schon durch ständige Überprüfung und durch Verwendung stets der gleichen Geräte beseitigt.

f) Temperatur.

Die Schwankungen der Zimmertemperatur betrugen im Laufe eines Tages etwa $\pm 2^{o}$. Ferner wurde festgestellt, daß durch die im Mikroskopstativ eingebaute Beleuchtungseinrichtung sich im Laufe von 4 Betriebsstunden der Objekttisch bis zu 9^{o} über Zimmertemperatur erwärmte (z.B. bei 18^{o} C Zimmertemperatur auf 27^{o} C). Eine darüber wahrscheinlich noch (geringfügig) hinausgehende Erwärmung erfährt das Präparat durch den Zentralstrahl des Kondensors, da eine Spezialschleuse nicht verwendet wurde.

g) Lösungen.

Hinsichtlich der Einstellung eines bestimmten osmotischen Druckes ergeben sich einerseits dadurch Fehler, daß durch die Formeln das tatsächliche physiko-chemische Verhalten der Lösungen nicht voll erfaßt wird (s.S. 9), andererseits wird der osmotische Druck der berechneten Lösung dadurch unkontrollierbar beeinflußt, daß der meist nicht angegebene und nur annähernd bestimmbare Kristallwassergehalt und die unbekannte Wasseraufnahme der Stoffe aus der Luft das Wägeergeb-

nis verfälschen.

h) Verunreinigungen.

a) Bakterien.

Bakterizid bzw. bakteriostatisch wirkende Pharmaca wurden den Suspensionen nicht zugesetzt. Bakterienwachstum wurde bei einer Aufbewahrungstemperatur von 18 - 23° C frühestens nach 6 Stunden in grösserem Maße deutlich. Die Testlösungen erneuerten wir alle 14 Tage.

b) Chemische Verunreinigungen.

Die chemische Reinheit der Substanzen und Glasgeräte wurde sorgfältig kontrolliert, da besonders die Untersuchung der Ionenwirkungen hier größte Genauigkeit erforderten.

IV. DIE GRUNDLAGEN DER SPERMATOZOENMOTILITÄT.

A. Die Kontraktilität.

Die Bewegung von Mensch und Tier sowie die ihrer Samenzellen beruhen auf der Fähigkeit von Zellen, potentielle chemische Energie in mechanische zu verwandeln und freizusetzen. Eine bedeutende Voraussetzung für diese Fähigkeit liegt in der Eigenschaft von protoplasmatischen Strukturen dieser Zellen, sich reversibel kontrahieren zu können. Diese Eigenschaft wird Kontraktilität genannt.

Die Ausdifferenzierung des intrazellulären, protoplasmatischen Proteingerüstes zugunsten dieser Kontraktilität ist in den Zellen der verschiedenen Gewebe sehr unterschiedlich. Das ist rein äußerlich am Funktions- bzw. Kontraktionseffekt und somit an der mechanischen Leistungsfähigkeit der einzelnen Zelle oder eines Zellverbandes erkennbar. Unter diesem Tatsachenaspekt verbergen sich vier eng zusammenhängende grundlegende Probleme:

1. Die Frage nach der Natur des Kontraktionsvorganges.

2. Die Frage nach den letzten, subtilsten morphologischen Elementen

des kontraktilen Mechanismus.

3. Die für eine Zellart spezifisch morphologische und funktionelle Differentiation des Kontraktionsapparates.

4. Das Problem einer gemeinsamen Grundmechanik der kontraktilen Vorgänge in allen Zellen, die mechanische Energie freisetzen.

Eine vollständige Antwort auf diese Fragen läßt sich bis heute noch nicht geben; ihre Lösung liegt in der excessiven Kenntnis der Feinstruktur und ihrer Veränderungen während des Kontraktionsvorganges. Beim Kontraktionsvorgang, wie er für den Muskel gedeutet wird, handelt es sich im Prinzip um die Aufknäuelung oder Faltung submikroskopischer Eiweißketten (A s t b u r y 1939/50; S c e n t G y ö r g y i 1940; F e n n 1947; F l e c k e n s t e i n 1955) die etwa nach Art einer gespannten Feder, auf Grund einer ihnen innewohnenden elastischen Verkürzungstendenz in den desorientierten Zustand der Kontraktion übergehen (W ö h l i s c h 1940); nach dieser Auffassung erfolgt die Längsorientierung bzw. Streckung der Peptidketten aktiv entgegen den intermolekulären bzw. elastischen Kräften unter Energieaufwand durch ein sogenanntes "Dehnungssystem". Andererseits gibt es in der Muskelphysiologie Erscheinungen, wie z.B. die große Dehnbarkeit des ruhenden Myosins, die die Annahme berechtigt erscheinen lassen, daß die langen Eiweißmoleküle bei der Kontraktion neue verkürzungsaktive Bindungen eingehen. Dies könnten z.B. Querverkettungen durch Wasserstoffbindungen oder neue Seitenkettenbindungen sein. Jedenfalls ist die Frage, ob aktiver oder passiver Kontraktionsmechanismus im einzelnen noch nicht entschieden (vgl. F e n n 1947; F l e c k e n s t e i n 1955).

Bei den genannten Polypeptidketten handelt es sich also um hochmolekulare Eiweißkörper (Proteine). Allgemein kann man nach E d l b a c h e r - L e u t h a r t (1952) die Proteine in eine "fibrilläre" und eine "globuläre" Gruppe einteilen. Die fibrillären Proteine sind meist faserbildend und unlöslich (einem anderen organischen kettenmolekularen Naturstoff, der Zellulose, vergleichbar). Demgegenüber sind die globulären leichter löslich und lassen auf Grund ihrer komplizierten röntgenographischen Interferenzbilder auf einen komplexen inneren Aufbau schließen. In den fibrillären Proteinen stellt man

sich nach den gleichen Autoren die Plypeptidketten gestreckt und in Bündeln angeordnet vor, während die Ketten der globulären Proteine in einer komplizierten Weise aufgeknäuelt und gefaltet sind, so daß sie in den drei Dimensionen nahezu gleiche Ausdehnung haben. Kommt ein und dasselbe Molekül in zwei Konfigurationen, d.h. in einer gestreckten und einer nicht gestreckten Form vor, so nennt man die nichtgestreckte α-Form und die gestreckte β-Form.

E d l b a c h e r - L e u t h a r t (1952) halten es auf Grund der Befunde von A s t b u r y und H. H. W e b e r für erwiesen, daß das Myosin das doppelbrechende Element der Muskelfaser darstellt. Dies ist ein Eiweißkörper, den man durch Extraktion des Muskels mit Salzlösungen in fraktionierter Fällung der Extrakte gewinnt. Er stellt neben Albuminen (28 %), Globulin x (20 %) und Tropomyosin (5 %) mit 40 % einen sehr hohen Anteil der löslichen Muskelproteine dar. Aus dem von v. M u r a l t (zit. b. E d l b a c h e r - L e u t h a r t , 1952) nachgewiesenen Zusammenhang zwischen Kontraktion und Doppelbrechung schließt man, daß das Myosin mit dem kontraktilen Element gleichzusetzen ist. Ein weiterer Eiweißkörper, das Actin, scheint ebenfalls bei der Muskelkontraktion eine Rolle zu spielen. Es kommt in einer globulären G-Form und einer fibrillären F-Form vor (E d l b a c h e r - L e u t h a r t , 1952). Es verbindet sich in seiner fibrillären Form mit dem Myosin zu einem Komplex, dem Actomyosin. Die Röntgen-Faserdiagramme weisen für den größten Teil des Myosins die α-Konfiguration aus. A s t b u r y fand durch Vergleich der Faserdiagramme vom Froschsartorius mit denen vom Myosin und des fibrillären Actins, daß im Muskel der Faserachse parallel laufende Fibrillen von Myosin und F-Actin auch tatsächlich vorhanden sind. Aus diesen Befunden und anderen, die mit dem Stoffwechsel zusammenhängen, entwickelt A s t b u r y (1950) seine verbreitet anerkannte Hypothese des Kontraktionsmechanismus, die er in folgender Skizze wiedergibt:

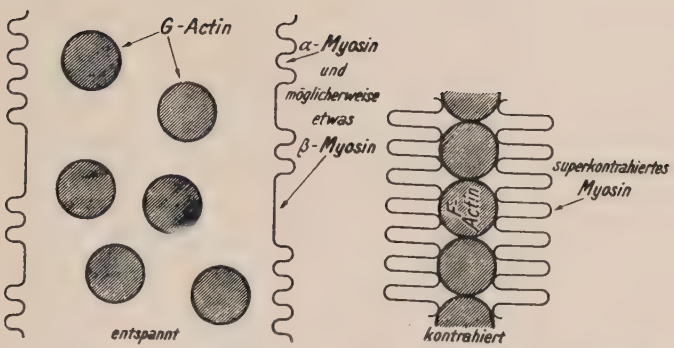


Abb. 6: Schema der Muskelkontraktion nach Astbury (1950). Darstellung des Verhaltens der kontraktilen Feinstruktur.

Wie sich aus der Abb. 6 ergibt, glaubt A s t b u r y also, daß der eigentliche Mechanismus der Kontraktion einer Fibrille in einer Aneinanderlagerung von Myosin und Actinketten besteht. Das G-Actin soll dabei in die F-Form, und das Myosin in einen sogenannten "Superkontraktionszustand" (=vermehrte Kettenfaltung) übergehen. Dadurch würde die bei der Muskelkontraktion auftretende Härtesteigerung gut erklärt, bei der der Muskel infolge der dichteren Packung der submikroskopischen Strukturen von der flüssigeren Konsistenz in eine halbfeste übergeht.

In der Zelle gibt es protoplasmatische Bewegungsabläufe, die sich auf bekannte Gesetzmäßigkeiten in der Wirkung chemophysikalischer Kräfte zurückführen lassen, ohne daß es sich dabei direkt um an die oben angedeuteten Strukturen und Mechanismen gebundene Kontraktionen handelt. Es ist bekannt, daß Oxydo-Reduktionen, die an Membrangrenzflächen ablaufen, Anlaß zum Aufbau elektrischer Felder sein können. Dasselbe leistet die Osmose bzw. der Transport von Wasser durch Membranen. Aber auch umgekehrt sind solche elektrischen Kräfte in der Lage, an den Membranoberflächen Redox-Vorgänge anzuregen und die "Elektroosmose" als Umkehr der "Strömungsströme" in Gang zu setzen (R e i n 1949). Andere Gesetzmäßigkeiten in der Wirkung chemophysikalischer Kräfte, die Anlaß zu innerprotoplasmatischen Bewegungen sein können, sind Diffusion, lokale Konzentrationsänderungen durch

chemische Reaktionen, Potentialgefälle, Oberflächenspannungsänderungen, Hydratation bzw. die Zustandsänderung von Kolloiden. Geht man weiter in der Analyse, so trifft man auf die Kräfte und Energiezustände selbst, wie Wärme, elektrische und v a n d e r W a a l'sche intermolekulare Kräfte, sowie chemische Kräfte und man bekommt den Eindruck, daß sie neben ihrer komplexen Beschaffenheit auch in ihrem Wesen zusammenhängen müssen. Auf diese Weise entstehen Bewegungen in der Zelle, wie z.B. die B r o w n 'sche Molekularbewegung, die Wanderung anorganischer und organischer Ionen, Formänderungen von Strukturelementen und Flüssigkeitskammern infolge der Zustandsänderungen an Phasengrenzflächen oder auf Grund von Quellung usw., plötzliche Viskositätsänderungen im Plasma, die in die eigentlichen Protoplasmabewegungen übergehen. Zu letzteren hat die Kontraktilität so enge verwandtschaftliche Beziehungen, daß ihre absolute Abgrenzung von den anderen protoplasmatischen Bewegungserscheinungen kaum möglich erscheint; aber obschon diese anderen Bewegungen als Voraussetzung für die Kontraktion und als Begleiterscheinungen wesentlich sein mögen, können sie doch nicht mit ihr identifiziert werden.

Alles in allem ergibt sich aus der analytischen Zurückführung auf die Elemente des Protoplasmas eine engere definitive Fassung des Begriffs der biologisch funktionellen Kontraktilität:

Die biologisch funktionelle bzw. physiologische Kontraktilität ist der Ausdruck eines von komplexen chemophysikalischen Einflüssen gesteuerten Packungseffektes organischer Moleküle und Molekülaggregate, die aus einer längsorientierten β - Konfiguration in eine kompliziertere Faltung, die α- Konfiguration übergehen. Durch sie wird die Zelle in je nach Spezies und Gewebeart modifizierter Weise in die Lage versetzt, einzeln oder in Gruppen zusammengefaßt meist entsprechend den Intentionen eines übergeordneten Organismus mechanische Arbeit zu leisten.

Im Folgenden wird der äußere Charakter der kontraktilen und ähnlichen Mechanismen und Strukturen kurz umrissen. Hierdurch soll die Spezialisierung des Kontraktionsapparates des Spermatozoenschwanzes für seine differenzierten funktionellen Aufgaben und die Position, die er daher unter denen der übrigen kontraktilen Zellen einnimmt, besonders berücksichtigt werden.

a. Die kontraktilen Gewebe.

1. Die Protoplasmaströmung.

Nach F e n n (1947) ist die Protoplasmaströmung, wie sie sowohl intrazellulär bei niederen Tieren und Pflanzen - als auch als strömende Bewegung eines hüllenlosen Gesamtplasmas (wie z.B. bei den Myxomyceten) sichtbar wird, schwieriger mit der Kontraktilität in Verbindung zu bringen als die amöboide Bewegung. Hier hat bisher die Komplexität des chemophysikalischen Zellgeschehens wie auch die mangelnde Abgrenzbarkeit spezifisch kontraktiler Strukturen vom Gesamtplasma eine eindeutige Entscheidung zu Gunsten der Kontraktilität verhindert. Hypothesen, die diese Bewegung einseitig auf Sol - Gelveränderungen oder konstante Diffusionsgefälle zwischen verschiedenen Zellpunkten zurückführen wollten, erwiesen sich als wenig befriedigend. P e t e r s (1938) ist der Auffassung, daß diesen Erscheinungen die Faltung langer Eiweißmoleküle, die das fibrilläre Netz des Zellskelettes aufbauen, zugrunde liegt. Diese Hypothese wird durch die Untersuchungen von K a m i y a (1942) u.a. gestützt.

2. Die amöboide Bewegung.

Die amöboide Bewegung wird nach Ansicht der meisten Autoren (z.B. S c h a e f f e r , 1920; L e w i s , 1942; F e n n , 1947) durch die Kontraktilität der oberflächlichen Protoplasmagelschichten hervorgerufen. Nach F e n n (1947) stellt man sich die amöboide Bewegung so vor, daß sich an dem der Bewegungsrichtung entgegengesetzten Ende des Tieres auf einen Reiz hin, die im Gel des Ektoplasmas befindlichen Proteinketten kontrahieren und das Sol des Endoplasmas unter erhöhten Druck setzen. Das hat dessen Durchbruch durch das Ektoplasma zur Folge und bewirkt so die Aussendung eines Pseudopodiums. Da chemische Unterschiede zwischen dem vorderen und hinteren Tierende durch Differentialfärbeverfahren nachgewiesen worden sind, vermutet F e n n (1947), daß hier, wie bei der Muskelkontraktion, chemische Umsetzungen auftreten. Diese sollen während der Restitution des Vorderendes wieder rückgängig gemacht werden. Derselbe Autor meint, daß unter Voraussetzung der Richtigkeit der Kontraktilitätstheorie es sich bei Mycetozoen und Rhizopoden um eine primitive Form- eine Art Vorstufe - kontraktiler Struktur handeln müsse. Da nach

S c h m i d t (1937) bei diesen beiden Tierformen keine Doppelbrechung nachweisbar ist, schließt F e n n auf weit auseinanderliegende, ungeordnete Proteinketten.

Die Doppelbrechung ist dagegen bei Heliozoen und Radiolarien gut nachweisbar. Es soll hier ein von kontraktilem Protoplasma umgebenes axiales Skelett in den Pseudopodien sich finden: Ein offenbar erstes Auftreten eines charakteristischen Apparates also, wie er von den weiter vervollkommneten Cilien und Spermatozoen bekannt ist. Nach F e n n (1947) ist nicht bekannt, ob die Doppelbrechung vom axialen Skelett, von der Protoplasmahülle, oder von beidem herstamme. In den Axopodien der genannten niederen Tiere kann sich das fibrilläre Protoplasma (oder die Myoide) um 1/5 ihrer Entspannungslänge oder weniger verkürzen. Man will auch bei einigen Formen Querstreifungen gesehen haben. (S p e c k , 1925). Da diese Zellen auch durch elektrische Reizung zur Kontraktion anzuregen sind, müssen sie nach der Ansicht von F e n n (1947) ein höher entwickeltes kontraktiles Element als die Amöben besitzen.

3. Die Kinozilien des Flimmerepithels.

Die nächste Stufe einer Höherentwicklung und Spezialisierung auf eine Teilaufgabe im Rahmen eines größeren Organismus stellen die Kinozilien des Epithels niederer und höherer Tierformen dar. Die Zilien sind ebenfalls fibrillärer Struktur, aber schärfer im Aufbau gegliedert und eindeutig doppelbrechend. Nach F e n n (1947) besteht der kontraktile Mechanismus entweder aus einer kontraktilen Fibrille, die durch eine elastische Struktur in die Ruhestellung zurückgeführt wird, oder aus zwei Fibrillen, die über ein zwischen ihnen liegendes biegsames Skelett gegeneinander arbeiten." Nach S a g u c h i (1917) und G r a y (1921) gehört zum kontraktilen Apparat noch das Zelldrittel der freien Seite mit dem Basalkörperchen, dem eine wichtige Rolle bei der Bewegung zugesprochen wird. (S a g u c h i (1917). Ein von diesen Zellteilchen getrenntes Zilium hat die Fähigkeit zur Bewegung verloren. Hierin kann man das Zilium mit den Spermatozoen vergleichen, bei denen das motorische Organ im sogenannten Zwischenstück, also ebenfalls zwischen kontraktilem Mechanismus und der übrigen Zelle lokalisiert ist. Auch hier haben die an die Stelle des Basalkörperchens getretenen entsprechenden Gebilde enge morphologische und funktionelle Beziehungen zum kontraktilen

Mechanismus.

Aus der umfassenden histologischen Darstellung zahlreicher Formen von Flimmerzellen durch S a g u c h i (1917) läßt sich eine solche Zelle allgemein wie folgt skizzieren:

Die freie Seite ist durchweg mit mehreren Flimmerhaaren besetzt, die eine mehr oder weniger ausgeprägte und charakteristisch gestreifte Cutikula durchlaufen, die mit der Basalkörperchenebene in Verbindung steht. Mit jedem Zilium hat ein solches Basalkörperchen Kontakt. Je nach Tierart und Epithelzelltyp kann das Körperchen eine besondere Form aufweisen. Die aus den Basalkörperchen austretenden Ausläufer der Zilien (sogenannte Wurzelfasern) durchlaufen zunächst die transparente Zone, die sich in den meisten Fällen deutlich ausgeprägt findet und verlieren sich dann unter den Trabekeln des protoplasmatischen Retikulums in den übrigen 2/3 des Zellkörpers, die den Kern- und Mitochodrienapparat enthalten. Das Zilium, Basalkörperchen und die Wurzelfaser stellen eine kontinuierliche Struktur dar.

G r a y (z.B. 1921) hat in mehreren seiner Arbeiten die Ähnlichkeiten und Gemeinsamkeiten zwischen Flimmerzelle, Muskelzelle und Spermatozoon insbesondere in chemophysikalischer Hinsicht (Elektrolytstoffwechsel) betont. Darüber hinaus ist darauf hinzuweisen, daß genauso, wie die vielen Muskelzellen vom übergeordneten tierischen Organismus zu funktionellen Einheiten mit dem Erfolg potenzierter Leistungssteigerung zusammengefügt werden, so werden auch die im einzelnen einfacher gebauten Flimmerzellen von den verschiedenen Organismen zu Funktionsaggregaten zusammengefaßt. Durch diese Summation der mechanischen Arbeit der Einzelzelle wird es dem Gesamtorganismus möglich, seine mechanische Energie gezielt und damit oekonomisch für sich einzusetzen und ein Maximum an Leistung zu erreichen.

Es geht also mit der Höherentwicklung und Spezialisierung des Einzelelementes mechanischer Bewegungsentfaltung auch eine Konzentration und Oekonomisierung in der Anordnung einher, die für den übergeordneten Organismus offenbar ein Optimum darstellt.

4. Die Geißeln und ihre Bewegung.

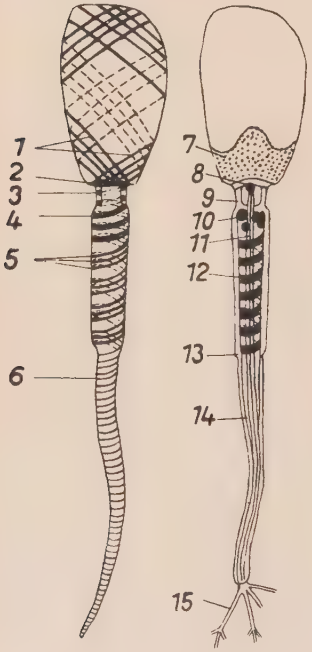
Nach F e n n (1947) verhalten sich Geißeln im allgemeinen wie Zilien, ihre Wirkungsweise sei aber eher der eines Propellers, als der eines Ruders ähnlich. In ihnen sind verschiedene miteinander ver-

drillte Fäden sichtbar, wie von D e l l i n g e r (1909) beschrieben wird. Nach S c h m i d t (1937) sind sie wie die Spermatozoenschwänze doppelbrechend.

5. Der Ablauf und das morphologische Substrat der Spermatozoenbewegung.

a. Das morphologische Substrat

Die Spermatozoen der Wirbeltiere gliedern sich grob gesehen in den Kopfteil als den voluminösesten Zellteil und Träger des Chromatins und in den Schwanzteil, als Antriebsorgan (siehe Abb. 7) für den Kopf.



1. Kopffibrillen
2. Halsband
3. Gelenkteile
4. Äußere Spiralwindung (Mittelstück)
5. Aufsplitterung in dünnere Fäden
6. Äußere Spiralwindung (Schwanz)
7. Chromosomenschatten
8. Centrosom
9. Gelenkteile
10. Golgi - Körper
11. Axialfilament
12. Breite Spiralwindung
13. Rindenplasma
14. Involucrum
15. Protofibrillen (Axialfilament)

Abb. 7: Schematische Darstellung des Bullenspermatozoons nach B r e t s c h n e i d e r u. v. I t e r s o n (1947) aufgrund elektronenmikroskopischer Aufnahmen.

Der Schwanzteil der Spermatozoen wird weiter unterteilt in den Hals, der bei zahlreichen Spezies durch ein deutliches Querband charakterisiert wird (B r e t s c h n e i d e r, 1955), unter dem die beiden Körperfaszikel mit dem Kopf in Beziehung stehen. Der Halsteil stellt nach der Meinung mehrerer Autoren eine gelenkige Verbindung des Kopfes mit dem schlanken Teil des Spermatozoenkörpers - bzw. eine Art elastische Isolierung der großen Kopfmasse von den bewegenden Teilen dar. In seinem Zentrum liegt das proximale Zentrosom, der Ursprung des Axialfilaments.

An den Hals schließt sich das Zwischenstück an. Bei Zertrümmerung von Spermatozoen durch Verreiben mit Glasstaub wurde es als das motorische Zentrum der Bewegung erkannt: P e t e r (1899) für Froschsperm.; R e d e n z (1924) für Säugetiersperm. Das isolierte Zwischenstück ist noch in der Lage, wurmartige Bewegungen auszuführen.

Das Zwischenstück wird über den H e n s e n s c h e n Schlußring hinaus in das Hauptstück des Schwanzes fortgesetzt. Lichtmikroskopisch lassen sich in ihm durch eine transluzente Schicht mehrere doppelbrechende Fibrillen erkennen, die den gesamten Schwanz offenbar kontinuierlich durchlaufen. Hier macht sich nun die Durchbiegung während des bewegenden Schlages am deutlichsten bemerkbar.

Wir konnten einige Male in Meerschweinchenhodensuspensionen Spermatiden beobachten, aus denen ein Schwanzfaden von nahezu normaler Länge ausgewachsen war, ohne daß die Kopfstrukturen dem endgültigen Zustand ähnlich waren. Dieser Schwanzfaden war jedoch nur halb so dick, wie in der Norm. (Einmal sahen wir an Stelle eines einzigen zwei dieser Fäden.) Sie bestanden stets aus einer stärker lichtbrechenden Substanz als die der transluzenten Schwanzhülle der reifen Spermatozoen. Sie wurden in isotonischer NH_4Cl-Lösung bei 26° C und P_H 6,1 in sehr lebhafter, peitschenartig schlängelnder Bewegung befunden, die von der der übrigen Spermatozoen grundlegend verschieden war. Aus dieser Beobachtung ist zu entnehmen, daß die Spermatozoenbewegung von mindestens zwei strukturgebundenen Faktoren abhängt, die in ihrer Wirkung divergieren und nur zusammen den normalen Schwanzschlag des Spermatozoons ergeben. Eine Erklärung hierfür liefert die Ansicht B r e t s c h n e i d e r s (1947), der einen Antagonismus zwischen dem Axialfilament und der corticalen Spirale annimmt. Welche von beiden Strukturen die aktive ist, vermag er jedoch nicht zu entscheiden.

Das Hauptstück läuft in dem sogenannten Retziusschen Endstück aus; es ist ein verdünnter Schlußteil, dem offenbar die transluzente Umhüllung - nach Bretschneider (1947) das Endoplasma - fehlt. Mit dieser Bauweise gleicht der Spermatozoenschwanz der Geißel oder dem Zilium anderer tierischer Zellen; denn es ist bekannt, daß diese aus einer fibrillären Achse bestehen, die von Ektoplasma umhüllt ist (Bretschneider, 1947). An seinem Ende wird von einigen Autoren ein zuweilen aufgefasertes Terminalfilament beschrieben. Bretschneider (1947) führt die Auffaserung in 9 Subfibrillen auf artefizielle Zerstörung des Ektoplasmas zurück. Bei geeigneter Praeparation und besonders bei elektronenoptischer Darstellung (Seymour und Benmoshe, 1941; Bretschneider, 1947/55; Doepfmer, 1955; Reinlein, 1956) treten eine Fülle von weiteren Einzelheiten zutage (s. Abb. 7). Ihre Bedeutung ist jedoch im einzelnen noch sehr umstritten bzw. völlig unbekannt, sodaß sie hier nicht erwähnt zu werden brauchen.

b. Der Bewegungsablauf bei Spermatozoen des Meerschweinchen und des Menschen.

Morphologisch weisen Meerschweinchen- und Menschenspermatozoen zwar einige Unterschiede in der Kopfform und vor allem in der Gesamtgröße auf - das Meerschweinchenspermatozoon ist etwa 20 - 30 % größer, - jedoch scheinen die bei beiden Spermatozoenformen im Prinzip sich zu entsprechen und in Einzelheiten übereinzustimmen. So besteht u.a. eine gute Übereinstimmung in den Abläufen des propulsierenden Schwanzschlages. Ein Vergleich mit den Flimmerzellen zeigt, daß entsprechend den verschiedenen funktionellen Anforderungen, die an diese Zellen gestellt werden, bei den Spermatozoen ein Unterschied im Bewegungsablauf sehr ausgeprägt ist. Wie Gray (1921) an den Flimmerzellen von Mytilus edulis zeigt, folgt auf einen Arbeitsschlag des Ziliums ein Erholungsschlag, währenddessen sich die verausgabte Kraft verhältnismäßig langsam regenerieren kann. Dieser Erholungsschlag fehlt im Bewegungsablauf des Spermatozoons, denn jede Bewegung des Spermatozoenschwanzes aus der Ruhemittellage ist ein Arbeitsschlag, wenn dieser auch z.B. bei Hodenspermatozoen des Meerschweinchens in den meisten als physiologisch bezeichneten Testlösungen über ein schwaches Flimmern nicht hinausgeht.

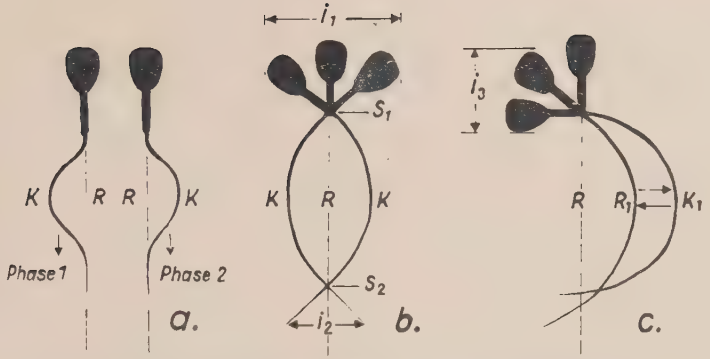
Zum Unterschied von der Flimmerepithelzelle ist das Ejakulatspermatozoon durch seinen funktionsspezifisch aufgebauten Bewegungsmechanismus auf Höchstleistung über den begrenzten Zeitraum seiner Tätigkeit hinausgerichtet. Jedoch ist die Fähigkeit der normalerweise ununterbrochenen Energieumwandlung über diese Zeit hinweg in solchem Ausmaß nicht allein einer morphologisch spezifischen Weiterentwicklung des kontraktilen Apparates zuzuschreiben. Es müssen die zur Umwandlung bestimmten chemischen Stoffe ja doch in potentielle Energie, d.h. für den kontraktilen Mechanismus verfügbar gemacht werden. Für den Modus einer Lieferung potentieller, nutzbarer Energie an das motorische Organ gibt es theoretisch mindestens zwei Möglichkeiten. Einmal wäre es denkbar, daß mit Hilfe eines normalen Ferment-Stoffwechselmechanismus ein Reservoir an potentieller Energie (möglicherweise eine Ionenbatterie nach den Vorstellungen F l e c k e n s t e i n s, 1955) aufgebaut wird. Hier sind die Phospholipidvorräte von Bullennebenhodenspermatozoen anzuführen, durch deren Oxydation nach L a r d y und P h i l l i p s (1945) diese den größten Anteil ihrer Bewegungsenergie beziehen sollen (s.S.37). Aus diesem Reservoir strömt nun nach Beseitigung einer Hemmung (etwa ähnlich der Kaliumhemmung, die von S c h l e n k und K a h m a n n (1938) bei Forellenspermatozoen entdeckt wurde) die Energie über die Mechanik des Spermatozoenmotors ab und hält diesen in Tätigkeit. Es könnte die Reservoirbildung bzw. die Vorgänge, die zu dessen Bildung führen, durchaus mit der genannten Weiterentwicklung des kontraktilen Apparates parallelgehen oder sogar mit dieser identisch sein (vgl. die Fermentwirkung des Myosins F e n n, 1947). Die andere Möglichkeit einer Vorstellung ist, daß sich mit der Ausbildung des kontraktilen Mechanismus im Spermatozoon ein höchst leistungsfähiges Stoffwechsel-Fermentsystem herausgebildet hat, das im Augenblick des Bedarfs (also bei Bewegungsauslösung) freigegeben wird und dem Spermatozoenmotor bei gleichzeitiger Spaltung der energieliefernden Substanzen die notwendige Energie direkt zuführt. Der von M a n n (1949) beschriebene Glukosegehalt des Samenplasmas soll nach Ansicht dieses Autors von den Ejakulatspermatozoen einiger Säugetiere direkt zur Energiegewinnung ausgenutzt werden können.

Störungen der Bewegung können sowohl chemische, als auch physikalische Ursachen haben. Bei der Tutocainwirkung auf Nebenhodenspermatozoen von Bullen und Meerschweinchen (B r e t s c h n e i d e r

1936, G r a n z o w 1932) tritt zunächst eine starke quantitative Erhöhung der Bewegung ein unter einschneidender Änderung des qualitativen Gesamtcharakters. Die Steuerung der in funktionell unoekonomischer Weise bedeutend gesteigerten motorischen Tätigkeit (etwa überdrehten Motoren vergleichbar) ist beeinträchtigt. Ähnliche Erscheinungen lassen sich auch in isotonischer NH_4Cl- oder Ringerlösung (P_H 6 - 7) bei Temperaturen über 50^o C kurz vor der Starre beobachten (s.S.46).

S c h l e n k und K a h m a n n (1938) haben eine Analyse des normalen Bewegungsbildes von Forellenspermatozoen mit Hilfe "kinematographischer Registrierung" durchgeführt, leider aber keine detaillierten Angaben darüber gebracht. Aufgrund der Fragestellung ihrer Untersuchungen begnügten sie sich mit der Feststellung, daß die Spermatozoengeschwindigkeit von der Intensität des "Geißelschlages" direkt abhängig sei. Neuerdings scheint man sich wenig mit dieser Frage beschäftigt zu haben, woraus man schließen könnte, daß man auch mit Hilfe neuzeitlicher Untersuchungsmethoden keine wesentliche Erweiterung der Erkenntnisse erwartet und die bisherigen Vorstellungen für ausreichend hält. Wir geben hier in Abb. 8 daher nur eine knappe Skizze der wesentlichen Bewegungsphasen von Säugetierspermatozoen, wie wir sie aufgrund der Literaturangaben (N a g e l, 1906) und eigener Beobachtungen uns vorstellen.

Bei den Spermatozoen von "Nutzvieh und Vögeln" hat M i l o v a n o v (cit. bei A n d e r s o n 1945) im Verlauf der normalen Bewegung eine Axenrotation gesehen, durch die die Gradlinigkeit der Bewegung erreicht würde. Nach Ansicht dieses Autors soll sie auf die asymmetrischen Kopfstrukturen zurückzuführen sein. Eine solche Rotation haben wir bei Meerschweinchen-, Ratten-, Hunden- und Menschenspermatozoen, sowohl aus dem Hoden, als auch aus dem Nebenhoden und Ejakulat nur ganz selten gesehen. Es konnte sich dabei also nur um Ausnahmen handeln. Verlangsamt man die Spermatozoenbewegung in hochviskösen Flüssigkeiten (z.B. Gummiarabicum / R i n g e r), so sieht man, wie auch M i l o v a n o v (cit. bei A n d e r s o n 1945) angibt, einseitige Schwanzschläge in einer Ebene. Bei Retespermatozoen z.B. in Locke- oder alkalischer Ringerlösung ist diese Bewegungsform die Regel. Darüberhinaus erfolgen die Schläge bzw. Ausbiegungen der Schwänze von Nebenhoden- und Ejakulatspermatozoen normalerweise unter stetem Seitenwechsel in allen Flüssigkeiten, in denen



K = Aktionskrümmung; R = Ruhestellung; R_1 = Ruhestellung in NH_4Cl; K_1 = Aktionskrümmung in NH_4Cl; i_1 = Summe der norm. Kopfdeviation; i_2 = Summe der norm. Endstückdeviation; i_3 = Deviation des Kopfes bei der Bewegung in NH_4Cl

Abb. 8:
a) Bei hoher Spermatozoengeschwindigkeit (++++) bzw. schneller Impulsfolge (z.B. bei Initialmotion von Ejakulatspermatozoen hochfertiler Tiere) entsteht der Eindruck, als liefen nacheinander wellenförmige Ausbiegungen über den Spermatozoenschwanz.
b) Eindruck bei etwas langsamer Bewegung (++). Darstellung des Phasenwechsels ohne Rücksicht auf das zeitliche Nacheinander zur Veranschaulichung der Kopf- und Endstückdeviationen.
c) Einseitige Bewegungen eines in isotonischer NH_4Cl-Lösung gebogenen Hodenspermatozoons (3 ccm Lösung auf 1/2 Meerschweinchenhoden. Untersuchungstemperatur 26°C).

sie progressiv beweglich sind.

Die Ausbiegung betrifft bei langsamer Impulsfolge mehr den ganzen Schwanz, während mit zunehmender Geschwindigkeit der Eindruck entsteht, als liefen in kurzem Abstand Wellen darüberhin. Hierbei vermag man allerdings jederzeit nur einen Wellenbauch auf dem Schwanz zu sehen (Abb. 8a). Es scheint mithin zwischen den Ausbiegungen eine kurze Refraktärpause zu liegen, deren Dauer größenordnungsmäßig etwa der Refraktärzeit des Muskels entspricht. Durch diese funktionellen Deformationen des Spermatozoenschwanzes, zu deren einwandfreien Registrierung und Beurteilung es jedoch besserer und objektiver Methoden bedarf, wird das Endstück peitschenartig hin- und hergeschnellt (Abb. 8b u. S. 26). Wie in Abb. 8b dargestellt, führen der Kopfteil

des Spermatozoons Pendelbewegungen mit der Amplitude i_1 um einen Drehpunkt S_1 und das Endstück solche mit einer Amplitude i_2 um einen Drehpunkt S_2 aus. S_1 liegt etwa in der oberen Hälfte des Zwischenstückes und S_2, der schwieriger zu bestimmen ist, ungefähr am Beginn des letzten Spermatozoenschwanzdrittels oberhalb des Endstückes. Bei höherer Geschwindigkeit des Spermatozoon (++++) ist das Gleiten ruhiger, da die Amplituden i_1 und i_2 der Deviationen von Kopf- und Endstück weniger weit sind. Dies ist zum Teil wenigstens darauf zurückzuführen, daß die Bewegungen von Kopfteil und Endstück einen Kontereffekt entwickeln, der bei höheren Geschwindigkeiten möglicherweise deswegen wirksamer wird, da sich dann eine zeitliche Verschiebung der Bewegungsphasen des Kopfes gegenüber denen des Endstückes ausbilden könnte. Jedenfalls wird durch diese Überlegungen deutlich, daß hier noch manche Frage offen ist und auch über die Größe der mechanischen Kräfte, die der Spermatozoenschwanz entwickelt, um den voluminösen Kopf voranzutreiben, liegen unseres Wissens noch keine Untersuchungen vor.

In einigen Lösungen, in denen Meerschweinchenhoden suspendiert waren, z.B. isotonische NH_4Cl-Lösung (P_H 6-7, bei 26° C) weist ein Teil der Hodenspermatozoen eine halbkreisförmige Krümmung auf (Abb. 8c). Auffällig war, daß diese Krümmung sowohl bei verhältnismäßig gut beweglichen, als auch bei vorübergehend unbeweglichen bzw. bei gerade unbeweglich gewordenen Hodenspermatozoen zu finden war. Bei Nebenhoden- und Ejakulatspermatozoen fanden wir sie, wenn überhaupt, dann bei weitem nicht so ausgeprägt. Wir sahen sie auch unter den gleichen Bedingungen bei menschlichen Hodenspermatozoen. Hodenspermatozoen, die sicher ihre Bewegungsfähigkeit eingebüßt hatten, d.h. solche, deren Eosintest negativ war, oder die mehrere Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt worden waren, zeigten diese Erscheinung im allgemeinen nicht. Die Bewegung dieser gekrümmten Spermatozoen kann an Lebhaftigkeit alle anderen Spermatozoen der Suspension übertreffen und verläuft wie die Pfeile in Abb. 8c andeuten, in einer Ebene und nur selten wird bei den Biegungen wie normal die Seite gewechselt.

In den Arbeiten aus den Jahren um 1920 über die Physiologie der Spermatozoen findet man zuweilen den Hinweis, daß die Hodenspermatozoen "empfindlicher" seien als Nebenhoden- oder Ejakulatspermatozoen. Es scheint sich auf den ersten Blick aus der Reaktion (Krümmung) und dem Bewegungsbild der verschiedenen Altersstufen der Meerschweinchensper-

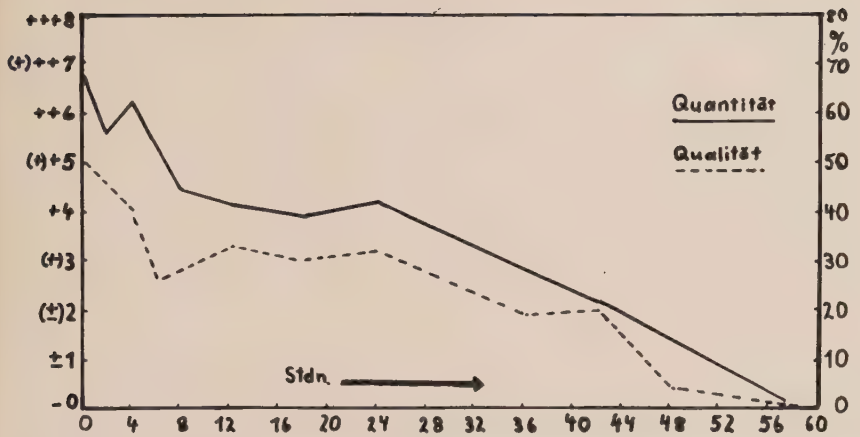


Abb. 9: Vergleich der Quantität und Qualität der Bewegung in Abhängigkeit von der Dauer der Bewegung der Hoden- und Nebenhodenspermatozoen des Meerschweinchens in isotonischer NH_4Cl-Lösung (P_H 6,1; 18°C Aufbewahrungstemperatur; Untersuchungstemperatur 23-26°C; 3 ccm Lösung auf 1/2 Hoden).

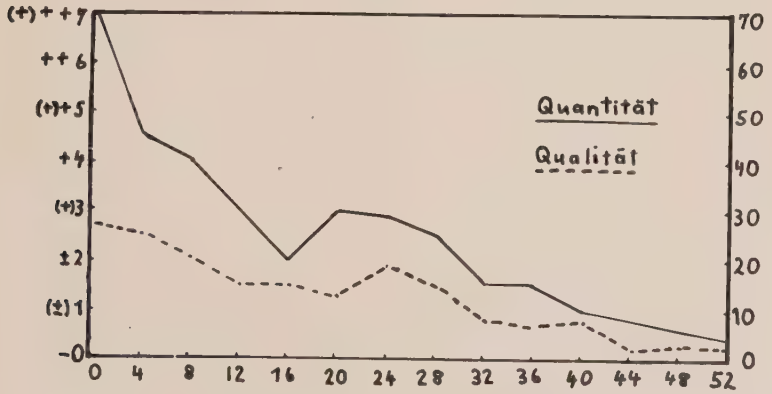


Abb. 10: Bewegungsdauer der Spermatozoen in ungefilterten Meerschweinchenhodensuspensionen. Untersuchungstemperatur 24°C, Aufbewahrungstemperatur 19°C, P_H 6,4, 2 ccm L o c k e - Lösung auf 1/2 Hoden.

matozoen gegenüber isotonischer Ammoniumchloridlösung eine ähnliche Schlußfolgerung ableiten zu lassen. Anders wird der Eindruck aber, wenn man die Bewegungsdauer der Spermatozoen verschiedenen Alters in der Lösung vergleicht. (vgl. Abb. 9). Während also in der Nebenhodensuspension die Bewegung nach 20 - 25 Stunden erlischt (W o l l, 1955) konnten wir in Hodensuspensionen durchweg noch nach 25 - 30 Stunden bewegliche Spermatozoen finden. In einigen Fällen beobachteten wir bewegliche Hodenspermatozoen, die über 40 Stunden und zuweilen sogar einige bewegliche, die 56 (!) Stunden in isotonischer Ammoniumchloridlösung unter den angegebenen Bedingungen suspendiert waren.

Aber auch in isotonischer Locke- bzw. Ringerlösung kann man (bei grober Suspension der Hoden) noch zuweilen nach 48 Stunden Hodenspermatozoen von Ratte, Meerschweinchen (vgl. Abb. 10), Hund und Mensch beobachten, deren Schwänze ein schwaches oszillatorisches Flimmern der Stufen 1 und 2 ($\pm$) u. $\pm$ zeigen. Daraus ergibt sich eindeutig, daß den Hodenspermatozoen die Potenz zu einer Bewegungsdauer gegeben ist, die derjenigen der älteren Spermatozoen durchaus entspricht. Allerdings ist die Bewegung der Hodenspermatozoen in der Quantität und besonders in der Qualität herabgesetzt und zwar bis heute in jedem Falle; denn es ist noch keine Möglichkeit abzusehen, Hodenspermatozoen bewegungs- und befruchtungsmäßig zu gleichen Leistungen anzuregen, die bei normalen Nebenhoden- und Ejakulatspermatozoen die Regel sind. Wenn man aber berücksichtigt, daß Hodenspermatozoen von vornherein allgemein weniger leistungsfähig als die Spermatozoen höherer Entwicklungsstufen sind und eine geringere Bewegung zeigen, so bleibt ihre Empfindlichkeit nicht weit hinter der der älteren Spermatozoen zurück, jedenfalls nicht so weit, wie man bisher offenbar allgemein angenommen hat. Das ließ sich einwandfrei durch unsere Versuche nachweisen, in denen wir die Hodenspermatozoen den verschiedensten thermischen, osmotischen und chemischen Bedingungen unterwarfen.

6. Unterschiede und Gemeinsames in dem Bewegungsprinzip beim Skelettmuskel und Spermatozoon in entwicklungsgeschichtlicher Sicht.

Die funktionelle Hauptaufgabe des Muskels ist die Erzeugung verhältnismäßig großer Kräfte zur Bewegung oder Spannung. Er ist für Leistung auf lebenslängliche Dauer und der dazu notwendigen Erholung eingerichtet, während beim Spermatozoon die regenerativen Möglichkei-

ten zugunsten eines einzigen konzentrierteren und somit im wesentlichen irreversiblen Leistungs- bzw. Bewegungsschubes zurücktreten. Diese Tatsache prägt sich deutlich in zwei Konstruktionsprinzipien des Muskels aus, die bei Spermatozoen fehlen. Dem Muskel wird einerseits die Ausbildung längerer Fibrillen und damit die Möglichkeit zu größerer Kraftentfaltung dadurch gegeben, daß sich mehrere Zellen zu einer vielkernigen Einheit ohne Zwischenschaltung von Zellgrenzen zusammenschließen (F e n n, 1947). Andererseits kommt hier die Zusammenfassung vieler dieser Aktionseinheiten zu einem funktionellen Ganzen höherer Ordnung, nämlich zum Gesamtmuskel, noch hinzu. Nach F e n n ist die Fibrille, die trotz Querstreifung ununterbrochen und gleichmäßig doppelbrechend von einer Sarkomere zur nächsten verläuft, die eigentliche kontraktile Einheit des Muskels. In diesen Fibrillen liegen, wie durch Röntgendiagramme etc. nachweisbar, die Polypeptidketten zu Mizellen zusammengedrängt. Der Autor deutet das Auftreten von sichtbarer Fibrillenstruktur und Doppelbrechung als "Zusammendrängung von immer mehr kontraktilen Elementen in einem gegebenen Raum". Die allgemeine Entwicklungstendenz verläuft hierbei im Sinne einer Höherentwicklung und Spezialisierung mit dem Ergebnis höherer Leistungsfähigkeit bezüglich der mechanokinetischen Freisetzung potentieller chemischer Energie. Diese Entwicklung soll vom fibrillären Proteinnetz der undifferenzierten Zellen ausgehen und einen Höhepunkt in der Querstreifung des Muskels finden; letztere wird nach B e r n a l (1938) durch Art und Festigkeit der Fibrillenpackung in der Faser bedingt.

Wenn man der Auffassung folgt, daß sich die Bewegungsapparate des Muskels u n d S p e r m a t o z o o n von einer gemeinsamen Basis aus unter Anpassung an die verschiedenen funktionellen Anforderungen entwickelten, dann kann man sich die Gemeinsamkeiten in den Grundzügen der Energielieferung und Energieumwandlung erklären. Gleichzeitig finden aber Unterschiede in Einzelheiten des Stoffwechsels und des physikalischen Geschehens entsprechende Berücksichtigung; denn aufgrund der Annahme einer Auseinanderentwicklung der kontraktilen Mechanismen verschiedener Gewebs- bzw. Zelltypen von der gleichen protoplasmatischen Urstruktur aus ist eine generelle Gleichsetzung der den Bewegungen zugrundeliegenden physiko-chemischen Abläufe nicht möglich. Eine weitgehende Übereinstimmung dürfte aber wahrscheinlich sein.

B. Biochemische Aspekte des Stoffwechsels und der Bewegung der Spermatozoen.

Verglichen mit den Arbeiten über den Stoffwechsel der übrigen Zellen und Gewebe des menschlichen und tierischen Organismus nimmt die Anzahl der im Schrifttum erscheinenden Untersuchungen über den Spermatozoenstoffwechsel erst in den letzten Jahren in vermehrtem Maße zu. Dieses verwundert umso mehr, als ja nach Mann (1949) diese Zellen aufgrund ihrer morphologischen und funktionellen Eigenarten einzigartige Untersuchungsbedingungen liefern. Im Folgenden sollen die wichtigsten Ergebnisse vorwiegend nach Mitteilungen Manns kurz besprochen werden.

a. Die Fruktolyse als Hauptenergiequelle für die Spermatozoenbewegung bei verschiedenen Säugetieren.

Es ist schon lange bekannt, daß Spermatozoen in Ejakulaten von Säugetieren sich auch unter Sauerstoffabschluß bewegen können (Walton u. Mitarb, 1928). Ivanov (1931) zeigte, daß sich in isotonischer Glukose-Phosphatlösung unter Blockade der Atmung durch Cyanid die Bewegung aufrecht erhalten läßt. Nach Redenz (1933) und zahlreichen anderen Autoren (vgl. Mann 1949, Anderson 1945) weist der Stoffwechsel der Ejakulatspermatozoen wenigstens einiger Säugetierarten vorwiegend glykolytischen Charakter auf.

Nebenhodenspermatozoen und interessanterweise auch die gewaschenen und zentrifugierten, d.h. also völlig vom Spermaliquor und seinen Ferment- und Substratkomponenten befreiten Ejakulatspermatozoen, zeigen ein vom unveränderten Gesamtsperma auffallend verschiedenes Verhalten. Erstere bewegen sich anaerob, z.B. nur in Gegenwart eines für sie glycolysierbaren Kohlehydrats (Fruktose, Glukose oder Mannose), während das Gesamtsperma unter den gleichen Bedingungen zur Aufrechterhaltung der Bewegung den Zusatz der genannten Zuckerstoffe nicht benötigt. Mann (1946/48 b) gelang der Nachweis, daß es sich überraschenderweise bei dem im Sperma zahlreicher Spezies in häufig hoher Konzentration (in Bullensperma bis zu 1000 mg %) vorhandenen Kohlehydrat um Fruktose handelt und daß diese die Aufgabe habe, als leicht auswertbarer Energiespeicher den Hauptbetrag der Energie für die funktionelle Aktivität der Spermatozoen zu liefern. In Hoden-

und Nebenhoden findet sich nach den Untersuchungen M a n n s Fruktose nur in Spuren. Als vorwiegende Ursprungsorgane nennt M a n n (1946/47/48 a) die Bläschendrüse und Ampullen. Beim Hund, bei dem nicht wie beim Kaninchen das Fehlen der Bläschendrüse durch entsprechende andere Organe ausgeglichen wird, finden sich nur verschwindende Mengen Fruktose im Ejakulat.

Der Betrag der Fruktolyse von Säugetierspermatozoen ist in N_2-Atmosphäre (also anaerob) größer als in Luft. Das Verhältnis zwischen Milchsäureproduktion und dem Verbrauch an Fruktose verschiebt sich unter N_2 merklich gegenüber dem unter Luft, entsprechend der sauerstoffabhängigen Milchsäureoxydation.

Die Frage, warum die Spermatozoen nicht wie die Zellen der Gewebe anderer Körperabschnitte Glucose oder Glycogen als Hauptenergiequelle

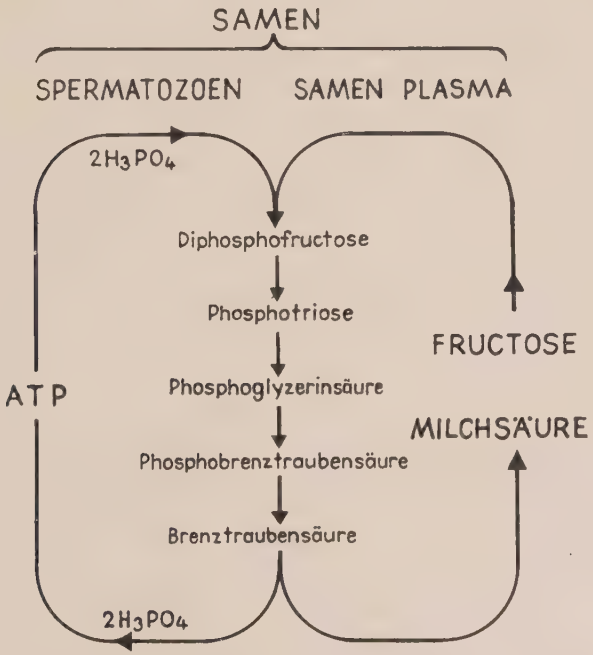


Abb. 11: Schema der Fruktolyse im Gesymtsperma nach T. M a n n (1949).

bevorzugen, ist nach M a n n einmal dadurch erklärbar, daß eine sehr deutliche Beziehung zwischen der Samenfruktose und dem männlichen Geschlechtshormon besteht; zum andern wird durch diesen Unterschied im Substrat die Energieversorgung der Spermatozoen vor der Konkurrenz mit anderen Organen und Geweben des Organismus bewahrt.

Gewaschene und zentrifugierte Spermatozoen haben die Fähigkeit, sowohl Fruktose wie Glucose (bzw. Mannose) in gleicher Weise auszuwerten. Dieses hat nach M a n n seinen Grund wahrscheinlich darin, daß diese drei Zucker mittels der gleichen Fermentreaktion mit ATP in die Glycolyse eintreten (vgl. Abb. 11).

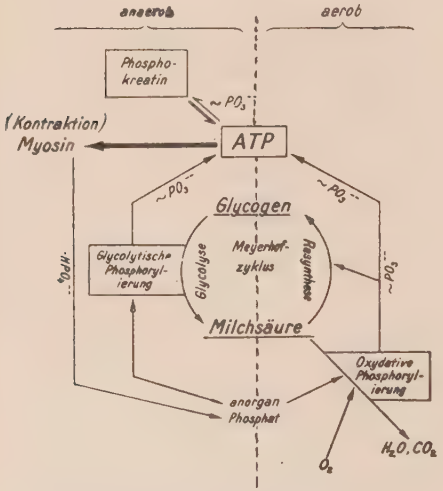


Abb. 12: Schema des Kohlehydratstoffwechsels (Meyerhofzyklus) im Muskel nach L e u t h a r d t - E d l b a c h e r (1954). PO_3^{--} bedeutet energiereiches Phosphat.

Der Wiederaufbau von ATP, die auf der ersten Stufe der Glycolyse abgebaut wird, wird durch die Reaktion zwischen Phosphobrenztraubensäure und Adenylsäure und durch die Reaktion zwischen anorganischem Phosphat und Adenylsäure bewerkstelligt. Die beiden Reaktionen stellen einen Teil der phosphorolytischen Oxydation der Phosphotriose dar (M a n n, 1945 b). Die letztere erfordert Cozymase (DPN), die wie ATP ein normaler Bestandteil der Spermatozoen ist. (W i n b e r g, 1941).

Die Untersuchungen über die Zwischenstufen des Kohlehydratabbaues bei lebenden Spermatozoen stützen die Auffassung M a n n s, daß ATP ein Bindeglied zwischen der funktionellen (bzw. Bewegungs-) Aktivität und der Glykolyse darstellt. Sowohl die Bewegung, als auch der Gehalt an ATP hängen beide von der Aufrechterhaltung der glykolytischen Prozesse im Sperma ab.

In diesem Zusammenhang ist ein Vergleich mit dem bereits weiter auf-

geklärten Kohlehydratstoffwechsel des Muskels interessant. In Abb. 12 bringen wir daher eine schematische Darstellung des Meyerhofzyklus.

b. Die Spermatozoenatmung.

Über die Atmung der Spermata und Spermatozoen bzw. über deren Sauerstoffverbrauch sind eine Fülle von Beobachtungen und Messungen veröffentlicht worden (Literatur bei: R e d e n z, 1933; A n d e r s o n, 1945; M a n n, 1949). Obgleich die Untersucher fast alle darin übereinstimmen, daß die Sauerstoffaufnahme eines Spermas von den zelligen Elementen hervorgerufen wird, geht nach Z e l l e r (1941) in einigen Fällen (besonders beim menschlichen Sperma) der Hauptteil der Sauerstoffaufnahme auf das Konto des Spermaliquors. Dies wird auf die Tätigkeit der Diaminooxydase zurückgeführt, die das Spermin als eines ihrer Substrate oxydiert. Befreit man jedoch die Spermatozoen durch Zentrifugieren und Waschen mit Ringerlösung vom Samenplasma, so wird dadurch der Sauerstoffverbrauch auf die Spermatozoen beschränkt, vorausgesetzt, daß keine sonstigen Zellen und Zelltrümmer (wie z.B. in der Hodensuspension) vorhanden sind.

Gewaschene Spermatozoen können sich auch bei Fehlen von Kohlehydrat in Luft noch eine gewisse Zeit bewegen. In diesem Falle werden Motilität und ATP-Spiegel länger erhalten als in Stickstoffatmosphäre. Von H e n l e und Z i t t l e (1942) wird darüberhinaus bei Nebenhodenspermatozoen für einen Teil der Sauerstoffaufnahme ein hitzebeständiger nicht dialysierbarer Faktor im Nebenhodensekret verantwortlich gemacht.

Die Tatsache, daß Nebenhodenspermatozoen und gewaschene Ejakulatspermatozoen ohne die Anwesenheit eines Kohlehydrats noch einen beträchtlichen Sauerstoffverbrauch zeigen, beweist, daß der aerobe Stoffwechsel von der Fruktolyse getrennt werden kann. Wahrscheinlich ist er eine Folge derjenigen endogenen Prozesse der Spermatozoen, die mit der direkten Verbrennung intrazellulären Materials verbunden sind. Nach L a r d y und P h i l l i p s (1941 a b/ 45) ist das endogene, aerob von den Bullenspermatozoen abgebaute Substrat kein Kohlenhydrat, sondern ein Phospholipid. Die Autoren nehmen an, daß die Bewegung von Bullennebenhodenspermatozoen durch Oxydation ihrer Phospholipidvorräte eingeleitet und unterhalten wird, die gleichzeitig mit einer Aufnahme von anorganischem Phosphat und der Bildung eines leicht hydrolysierbaren Esters verläuft, der möglicherweise mit ATP identisch ist.

Im Hinblick auf das gesamte, ejakulierte Sperma jedoch, können kaum Zweifel darüber bestehen, daß die Oxydation von Kohlenhydrat über andere aerobe Prozesse überwiegt und eine wichtige Quelle der Stoffwechselenergie für die Spermatozoen darstellt. M a n n hält es ausserdem für wahrscheinlich, daß bei jenen Spezies, die einen Überfluß an Fruktose im Sperma aufweisen, solche Prozesse wie diese Oxydation der Phospholipide erst dann in den Vordergrund treten, wenn die Fruktose verbraucht ist und eine vollständige Oxydation der Produkte der aeroben Fruktolyse stattgefunden hat. Diese Schlüsse ergeben sich aus der Feststellung des respiratorischen Quotienten der Spermatozoen unter An- und Abwesenheit glykolysierbarer Substrate (H e n l e und Z i t t l e 1941), aus Untersuchungen der Wirkung von Inhibitoren auf Atmung und Glykolyse (L a r d y und P h i l l i p s , 1943 a b) und aus Experimenten von M a n n und L u t w a k - M a n n (1948) über den Stoffwechsel in verdünnten Suspensionen gewaschener Bullen- und Widderejakulatspermatozoen.

Die atmungsstimulierende Wirkung auf Spermatozoen ist nicht nur der Fruktose, Glukose und dem Laktat, sondern auch verschiedenen organischen Säuren wie Brenztraubensäure, Oxalessigsäure, sowie Propion- und Buttersäure eigen. Von L a r d y und P h i l l i p s (1944) wurde auf die Essigsäure als mögliche Quelle oxydativer Energie hingewiesen. Bernsteinsäure wurde bei Seeigelspermatozoen als atmungswirksam befunden; jedoch erwies sich der Einfluß auf Seeigelspermatozoen als von grundlegend anderer Natur gegenüber dem, den derartige Substanzen auf Säugetierspermatozoen ausüben. Über den atmungsaktivierenden Einfluß solcher Substanzen wie Malonat, Jodazetat und Stickstoff - Lost berichten B a r r o n u. Mitarb. (1948).

c. Einzelkomponenten des Biochemismus des Spermas und Spermatozoen.

1. Die Bildung von Wasserstoffsuperoxyd im Sperma.

Wasserstoffsuperoxyd wirkt auf die Spermatozoenmotilität noch in Verdünnungen von 1,5 - 3 auf 10^6 Teilen vernichtend. T o s i c und W a l t o n (1945) identifizierten Wasserstoffsuperoxyd als das Produkt gewisser oxydativer Prozesse im Samen. Nach T o s i c (1947) ist der wasserstoffperoxydbildende aerobe Prozeß im Samen eine oxydative Desaminierung die durch L-Aminosäureoxydase katalysiert wird nach der Gleichung:

$R - CH_2\ CH\ (NH_2)\ COOH + O_2 + H_2O = R - CH_2\ COCOOH + H_2O_2 + NH_3$

E v a n s (1947) fand, daß stark röntgenbestrahltes Meerwasser, das als Verdünnungsmittel für Seeigelspermatozoen gebraucht wurde, zu einer schweren Reduktion der "Überlebensdauer" und zu einer erheblichen Verzögerung der ersten Teilungsvorgänge führte, wenn diese Spermatozoen zur Befruchtung von Arbacia - Eiern verwendet wurden. Als das toxische Agens in dem bestrahlten Wasser wurde Wasserstoffperoxyd ermittelt.

2. Die Rolle der Zitronensäure im Sperma.

S c h e r s t e n (1929/36) entdeckte die Zitronensäure im Samen und wies zuerst darauf hin, daß sie ein extrazellulärer Bestandteil des Spermas sei und im wesentlichen ihren Ursprung in den akzessorischen Geschlechtsdrüsen habe. Eine enge Beziehung zwischen der Zitronensäurebildung und der Funktion des Testikelhormons (ähnlich der Fruktose) wurde von H u m p h e r y und M a n n (1949) nachgewiesen. Die Zitronensäure soll einen günstigen Einfluß auf die Spermatozoenbewegung ausüben, so daß L a r d y und P h i l l i p s (1945) eine spezifische Verbindung mit den Prozessen der Spermatozoenmotilität vermuten. Bei Hodenspermatozoen des Meerschweinchens konnten wir in eigenen Untersuchungen keinen günstigen Einfluß auf die Bewegung feststellen. Die eigentliche Funktion ist noch nicht bekannt. Man nimmt an, daß die Zitronensäure sowohl mit der Koagulation und Verflüssigung des Spermas, als auch mit der Aktivität der Hyaluronidase (H u g g i n s und N e a l , 1942), bzw. mit der Kalziumbindungsfähigkeit des Samenplasmas (H u g g i n s 1945) verbunden ist.

3. Nucleinsäuren in Spermatozoen.

In mechanisch isolierten, gewaschenen Köpfen fand M a n n (1949) keine säurelöslichen, bzw. alkohol-aetherlöslichen Phosphorverbindungen. Jedoch enthielten sie zu 4 % Phosphonucleinsäuren. Der größte Teil der Phosphonucleinsäuren ist alkalilöslich, säurefällbar und zeigt ein Verhalten wie die Desoxyribonucleinsäure. Ein kleiner Teil des alkalilöslichen Materials ist nicht säurefällbar. Ein mittels 1 m Natriumchloridlösung von Forellensperma extrahiertes Nucleoprotamid zeigt eine deutlich fibröse Natur etwa ähnlich dem Muskelmyosin. Nach M a n n (1949) ist der fibröse Charakter aber an die Gegenwart von polymerisierter Desoxyribonucleinsäure gebunden und habe darum

in Wirklichkeit keine Ähnlichkeit mit dem Myosin. Trotzdem könne aber ein solches Protein in den Spermatozoen vorhanden sein, doch warte es bisher noch auf seine Entdeckung.

4. Die Bedeutung des Adenosintriphosphats für die Spermatozoen-Bewegung.

M a n n (1945 a,c) konnte eine leicht hydrolysierbare Phosphorverbindung, die er aus vom Gesamtejakulat abzentrifugierten Widderspermatozoen in erfaßbarer Menge als Bariumsalz isolierte, als Adenosintriphosphat (ATP) identifizieren. Von I v a n o v und Mitarb.(1946) wird das Vorkommen von ATP in Widder- und Eberspermatozoen ebenfalls berichtet. Diese Autoren fanden, daß die von ihnen aus den Spermatozoen rein dargestellte Substanz auf Muskelactomyosinfäden in der gleichen Weise wirkt wie vom Skelettmuskel isoliertes ATP.

M a n n zitiert mehrere Autoren, die darin übereinstimmen, daß ATP als Coenzym im Kohlehydratstoffwechsel eine Schlüsselstellung in Bezug auf die Spermatozoenbewegung einnehme, wie aus dem gleichlaufenden Verhalten von ATP-Spiegel und Motilität unter aeroben Bedingungen (vgl. S.37) geschlossen werden kann. M a c L e o d (1946) stellt fest, daß menschliche Spermatozoen ATP in der gleichen Weise spalten wie der Muskel. Der Aufbau von ATP wird nach Untersuchungen von L a r d y und Mitarb. (1945) durch Oxydation des Vorrats der Spermatozoen an Phospholipiden ermöglicht.

Neben ATP sind aber noch einige andere säurelabile Phosphorverbindungen in den Spermatozoen vorhanden. W a j z e r und B r o c h a r t (1947) machten die interessante Mitteilung, daß Säugetierspermatozoen (Eber) neben Phosphokreatin in besonderem Maße auch Phosphoarginin - eine nach L e u t h a r t - E d l b a c h e r (1954) für Wirbeltiere ungewöhnliche Erscheinung - enthalten. Die französischen Autoren erkennen in dem Vorkommen von Phosphoarginin in den männlichen Generationszellen, das ja bekanntlich so bezeichnend und wichtig für die Funktion des Avertebratenmuskels ist (E d l b a c h e r - L e u t h a r d t , 1954), eine ontogenetische Reminiszenz des Säugetierorganismus an in phylogenetischer Hinsicht zurückliegende Entwicklungsstufen und bringen dies mit dem Modus der Spermatozoenbewegung in Zusammenhang.

5. Schwefelhaltige Verbindungen.

Schwefelhaltige Aminosäuren und insbesondere die Sulfhydrylgruppe einiger Verbindungen scheinen für das Spermatozoon und seine Bewegung eine wichtige Rolle zu spielen (M a c L e o d , 1946). Zwei Drittel von dem 1,6%igen Schwefelanteil in der Gesamtzusammensetzung des Spermatozoons entfallen auf Cystin und Cystein, der Rest auf Methionin. Ferner scheinen zumindest quantitative Unterschiede in der Lokalisation von schwefelhaltigen Verbindungen am Spermatozoon zu bestehen; es wurde nämlich ein Verhältnis der beiden Aminosäuren Methionin und Cystin von 1,09 im Spermatozoenschwanz zu 1,87 im Kopf festgestellt. Auf Grund der Angaben einiger Autoren vermutet M a n n (1949), daß die Kopfmembran von einem keratinähnlichen Protein gebildet wird.

6. Vitamine und Spurenelemente.

Der Ascorbinsäurespiegel im Samen ist im allgemeinen sehr hoch. B e r g und Mitarbeiter (1941), P h i l l i p s und Mitarbeiter (1940) und Z i m m e t und Mitarbeiter (1936/39) fanden in menschlichem Samen bis 12 mg/100 ml; in Bullensamen 3 - 8 mg/100 ml und bis zu 8 mg/100 ml in Meerschweinchensperma. Eine bedeutende Verminderung dieser Werte geht mit Rückgang der Fertilität einher (Z i m m e t und S a u s e r - H a l l , 1939). Ascorbinsäure scheint vornehmlich im Spermaliquor vorzukommen. (B e r g u. Mitarb.,1941). Der Gehalt an Thiamin, Riboflavin, Panthothensäure und der Niazingehalt des frischen Bullensamens wird mit 0.089, 0.209, 0.371 und 0.363 mg/100 ml angegeben, wobei aber eine Beziehung zwischen dem Gehalt an diesen Vitaminen und der Zahl der Spermatozoen bestand.

M a n n (1945 a) stellt fest, daß Eisen, Kupfer und Zink als normale Bestandteile des Spermas anzusehen sind. Mit Ausnahme des Eisens, das mit dem Cytochrom des Spermas verbunden ist, sind Form und Funktion der Spurenelemente im einzelnen noch nicht aufgeklärt (M a n n , 1949).

Die Bedeutung der Vitamine für die Spermatozoen wird allgemein dahin interpretiert, daß sie durch ihre Beteiligung am Fermentaufbau für den Stoffwechsel und damit auch für die Bewegung unentbehrlich sind. Mit Ausnahme der Pantothensäure sollen insbesondere die Vitamine des

B-Komplexes wahrnehmbar mit der Initialmotilität der Bullenspermatozoen verbunden sein. (V a n D e n m a r k und S a l i s b u r y 1944).

7. Die Bedeutung einzelner Fermente und Fermentsysteme für Spermatozoen und das Sperma.

a. Das Cytochrom-Cytochromoxydasesystem.

Die Respiration lebender Zellen ist von der Gegenwart des Cytochrom-Cytochromoxydasesystems abhängig (K e i l i n 1925/30). M a n n (1945 a,b) konnte mit Hilfe des Mikrospektroskops das volle Spektrum der Cytochrome a,b und c sowohl im Gesamtsperma als auch in gewaschenen und zentrifugierten Ejakulatspermatozoen von Bullen und Widdern nachweisen.

b. Fibrogenase und Fibrolysin.

H u g g i n s und N e a l (1942) entdeckten die Fibrogenase im Sperma des Menschen und des Hundes, das zugesetztes Fibrinogen verdaut und zu Blut zugesetzt, dessen Koagulation verhindert. Sie fanden ferner ein zweites proteolytisches Ferment, das Fibrolysin. Es vermag Blutfibrin zu verflüssigen. Beide Enzyme, die offenbar in der Prostata gebildet werden, können bei der Wiederverflüssigung des menschlichen Samens eine Rolle spielen (M a n n 1949).

c. Die Hyaluronidase.

Über die Hyaluronidase, die in den Spermatozoen selbst vorkommt, sind verschiedene Untersuchungen veröffentlicht worden. (z.B. M a n n u. L u t w a k - M a n n 1944, T y l e r 1948). Die Möglichkeit einer Beteiligung dieses Fermentes an den Vorgängen um die Befruchtung des Eies wird noch immer diskutiert. M c C l e a n und R o w l a n d s (1942) nahmen an, daß die Gegenwart hoher Spermatozoenkonzentrationen in der Nachbarschaft des Eies erforderlich ist, um hier eine Hyaluranidasekonzentration zu erzielen, die hoch genug ist, die völlige Denudation des Eies - die Voraussetzung für das Eindringen des Spermatozoon in die Eizelle - zu erreichen. R o w l a n d s konnte Kaninchenei er mit geringen Spermatozoenkonzentrationen durch Zusatz zellfreien Spermaliquors, der vor dem Zentrifugieren verdünnt - also mit Hyaluronidase angereichert wurde, erfolgreich besamen. Die

Spermatozoenhyaluronidase entsteht hauptsächlich in jenen Epithelien des Testes, die mit den Spermatozoen direkt Verbindung haben. Jedoch dürfte die Bedeutung der Hyaluronidase für die Konzeption überschätzt worden sein; denn nach D o e p f m e r (1954) konnte in der Praxis durch Hyaluronidasegaben keine Fertilitätssteigerung erzielt werden.

d. Die Phosphatase.

Im Gegensatz zur Hyaluronidase ist die mächtige Phosphataseaktivität des Samens hauptsächlich an das Samenplasma gebunden (M a n n 1949). Die Hauptquelle der Phosphatase ist nach K u t s c h e r und W o l b e r g (1935) die Prostata. Die Prostataoxydase reagiert optimal bei schwachsauerem p_H und spaltet in gleicher Weise α- und β-Phosphoglycerol. Sie hat bei der Diphosphohexase und bei Pyrophosphat aber nur einen geringen Effekt. Zusammen mit anderen Bestandteilen des Samenplasmas kommt der Säurephosphatase der Charakter eines sekundären Geschlechtsmerkmals zu.

Als Folge des Wachstums maligner Tumoren erscheint sie anormalerweise im Blutplasma in beträchtlichen Mengen. Nach L u n d q u i s t (1946/47) enthält der menschliche Samen Phosphorylcholin, das in den Samenblasen entsteht und unter dem Einfluß des phosphatasereichen Prostatasekretes schnell in Cholin und anorganisches Phosphat gespalten wird. Außer der Prostataphosphatase unterteilt sich der Gesamtgehalt des Samens an Phosphatase noch in dephosphorylierende Fermente anderen Ursprungs, wie besonders in dasjenige aus den Samenblasen (M a n n 1947). R e i s (1937/40) berichtet, daß menschliches Samenplasma eine hohe Phosphataseaktivität gegenüber gewissen Nucleotiden wie Inosinsäure, Adenylsäure und Hefeadeninnucleotid aufweist. Unter den Samenphosphatasen betrifft die 5-Nucleotidase speziell die Dephosphorylierung der Adenylsäure. Sie ist gegenüber ATP und Adeninnucleotid vollständig inaktiv. In Phosphataseeinheiten ausgedrückt ist die Nucleotidaseaktivität im Samenplasma des Bullen 3 - 5000 verglichen mit 30 im Gehirn, 2 im Skelettmuskel und 0,05 im normalen Serum. Hefeadeninnucleotid wird durch das Samenplasma des Bullen langsamer dephosphoryliert als Muskeladenylsäure. Auf der anderen Seite nimmt ATP eine Zwischenposition zwischen den beiden Nucleotiden ein.

Die 5-Nucleotidase ist in den Spermatozoen bedeutend schwächer als im Samenplasma, wohingegen Bullenspermatozoen noch nach öfter wiederhol-

tem Waschen eine bemerkenswert hohe Phosphataseaktivität besonders gegenüber ATP aufweisen. Es ist klar, daß abgesehen von den physiologischen Unterschieden im Phosphatasegehalt der Spermata von verschiedenen Spezies, die Ergebnisse der Untersuchungen der Motilität von den Fermentverhältnissen in der Spermatozoensuspension weitgehend abhängig ist.

C. Die physikochemischen Grundlagen der Spermatozoenbewegung sowie eigene, experimentelle Untersuchungen zur Bewegung von Hodenspermatozoen - vorwiegend des Meerschweinchens.

I) Einfluß der Temperatur und Temperaturänderung auf die Bewegung der verschiedenen Entwicklungsstufen der Spermatozoen.

Der Einfluß der Temperatur auf die Dynamik des Zellgeschehens ist umfassend. Die Geschwindigkeit chemischer Reaktionen hängt, wie in der van t' Hoff 'schen Regel formuliert, weitgehend von ihrem Einfluß ab, und der physikalische Aspekt ihrer Wirksamkeit erstreckt sich von der Beeinflussung der Ionenbewegung über ihre Bedeutung für die Zustände an Zellmembranen und Grenzflächen bis zur Mechanik der Flüssigkeiten, Gase und dem Zustand protoplasmatischer Lösungen und Stoffe (Hitzedenaturierung usw). Durch die Temperaturabhängigkeit der Fermentreaktionen, die ja die Grundlage des gesamten Zellstoffwechsels sind, wird ihre Regulierung für alle Lebewesen von überragender Wichtigkeit.

1. Die Beeinflussung der Spermatozoenbewegung durch die Temperaturänderung in vitro.

a. Ejakulatspermatozoen.

Nach Walton (1930) liegt die obere Grenze der Wärmeverträglichkeit bei 45° C, nach Stigler (1914) für menschliche Spermatozoen bei 48° C und nach v. Ebner (1902) bei 42 - 45° C.

M a n t e g a z z a (1866) fand die gleiche Grenze für menschliche Ejakulatspermatozoen, die bei Temperaturen zwischen -15° und + 47° C ihre Bewegungsfähigkeit bewahren. Über die "Lebensdauer" der Spermatozoen im Ejakulat berichtet H a m m o n d (1930). Dieser Autor hat Ejakulatspermatozoen, die er aus der Scheide von Kaninchen genommen hatte, bei 35 - 37° C bis zu 14 Stunden, bei 10° C bis zu 16 Stunden in luftdicht verschlossenen Röhrchen in Bewegung gefunden. W a l t o n (1930) ermittelte bei 40° C eine Bewegung von 13 Stunden, S t i g l e r (1914) bei 40,2° C in menschlichem Ejakulat eine 4-stündige Bewegung. M o o r e , M a y e r u. M c K e n z i e (1940) beobachteten bei Widderejakulatspermatozoen bei 45° C Bewegungseinstellung nach 20 Minuten, bei 37° C nach 30 Minuten, bei 22.5° C nach 5 Stunden und bei 0° C nach 8 Tagen. In Untersuchungen von B e l o n o s c h k i n (1939a) zeigten menschliche Ejakulatspermatozoen bei 37° C nur 15 - 18 Stunden, bei 20° C 40 bis 70 Stunden lang Lebenserscheinungen. Der Autor zitiert zahlreiche Untersucher, die eine Temperatur um 10° C zur Erhaltung einer langen Bewegungsdauer für optimal halten. F r a n k , S m i t h und E i c h h o r n (1941) fanden, daß verdünntes wie auch unverdünntes Bullensperma bei +2° C ein bis zwei Tage aufbewahrt werden kann, ohne seine Befruchtungsfähigkeit einzubüßen. In einem unverdünntem, bei 0° C aufbewahrtem Widdersperma waren nach L e b e d e v a (1934) nach 27 Tagen noch bewegliche Spermatozoen nachweisbar. M a n t e g a z z a (1866) und Anderson (1945) stellten fest, daß die tieferen Temperaturen bei 0° C die Bewegung menschlicher Spermatozoen hemmen. Nach Einfrieren von Spermatozoen bis zu 4 Wochen und mehr, konnten je nach Verfahren und Kältegraden durch Auftauen wieder bewegliche Spermatozoen gewonnen werden.

Trotz der Erhaltung der Motilität lassen sich auch chemische Veränderungen in Ejakulaten unter dem Einfluß tiefer Temperaturen beobachten: Das Gefrieren einer wässerigen Spermatozoensuspension von wenigen Stunden Dauer bei -10° C oder von 24 Stdn. bei 0° C wurde von S w y e r (1947 a,b) für ausreichend befunden, daß die Hyaluronidase aus den Spermatozoen vollständig in das Medium übergeht. Nach P e r l m a n , L e o n a r d u. K u r z r o k (1948) ist die Fermentfreisetzung durch Spermatozoen mehr ein Anzeichen einer zugrundegehenden Zellpopulation als ein "Prärogativ" lebender Zellen. Die Einstellung der Bewegung unter dem Einfluß von Kältegraden bis

zu - 269,5° C (J a h n e l , 1938) ist auch nach längerer Einwirkung wenigstens bei einem Teil der Spermatozoen einer Suspension reversibel. S t i g l e r nennt eine ähnliche Erscheinung, die bei Temperaturen oberhalb 37° C eintritt, Wärmelähmung. Sie geht der bleibenden Wärmestarre kurz voraus und verschwindet bei "hinlänglich langer Abkühlung." Sie wird umso leichter zur irreversiblen Wärmestarre, je höher die Temperatur, bzw. je länger der Einfluß hoher Temperaturen dauert.

b. Nebenhodenspermatozoen.

S t i g l e r (1918) glaubt auf Grund seiner Untersuchungsbefunde annehmen zu können, daß die Wärmeresistenz der Spermatozoen im Nebenhoden nach distal hin zunimmt. Die Untersuchungen Y o u n g s (1931) der Spermatozoen Röntgenbestrahlungs- und Wärmeversuchen unterzog, sollen diese Ansicht jedoch nicht bestätigen.

c. Hodenspermatozoen.

Nach unseren Erfahrungen ist der Unterschied in der Wärmeresistenz zwischen den Hoden- und Nebenhodenspermatozoen des Meerschweinchens in vitro nicht bedeutend, vorausgesetzt, daß man diesen Entwicklungsstufen entsprechend modifizierte optimale Milieubedingungen schafft. Zudem muß man natürlich die im Vergleich mit den älteren Spermatozoenformen bisher noch unter allen Umständen qualitativ herabgesetzte Bewegungsfähigkeit der Hodenspermatozoen von vornherein als gegeben hinnehmen. R e d e n z (1925b) findet, daß das Ausmaß der Bewegungssteigerung der Hodenspermatozoen bei Erwärmung der Suspension im Brutschrank der Bewegungssteigerung gleichkommen kann, die man durch Änderung der aktuellen Reaktion auf einen $p_H 8$ gewöhnlich erreicht. Unsere Untersuchungen über die Initialbewegung und Bewegungsdauer von Hodenspermatozoen des Meerschweinchens bei verschiedenen Temperaturen sind in den Abbildungen 13, 14 u. 15 dargestellt.

Bei unseren Untersuchungen stellten wir fest, daß es bei Motilitätsbeurteilungen von Meerschweinchenhodenspermatozoen in hohem Maße auf das Verhältnis der Untersuchungstemperatur (Temperatur des Objektträgers) zur Aufbewahrungstemperatur ankommt. Liegt die Untersuchungstemperatur in gleicher Höhe oder oberhalb der Aufbewahrungstemperatur, so wird bei sonst optimalen Bedingungen auch bei relativ niedrigen

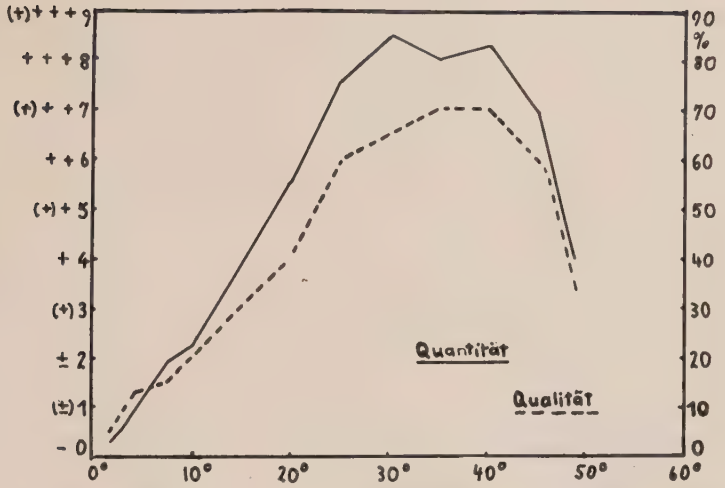


Abb. 13: Initialmotilität von Hodenspermatozoen des Meerschweinchens bei Temperaturänderungen. Suspension: Isoton. NH_4Cl-Lösung, 3,5 ccm auf 1/2 Hoden, P_H 6,0, vorgewärmte Objektträger.

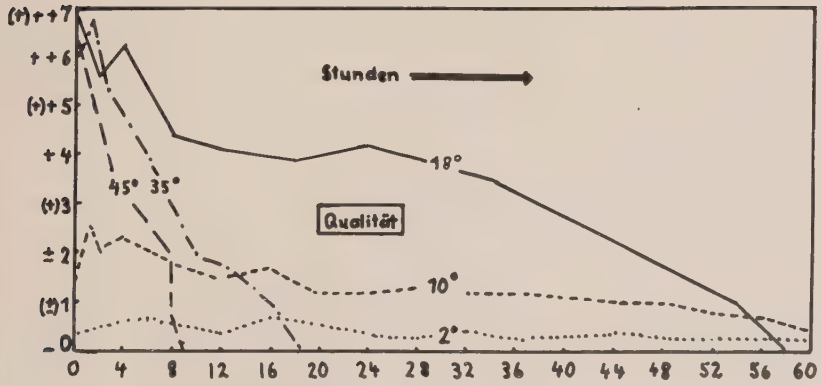


Abb. 14: Einfluß verschiedener Aufbewahrungstemperaturen auf die Dauer der Bewegung von Meerschweinchenhodenspermatozoen in isotonischer NH_4Cl-Lösung P_H 6,0, 3,5 ccm Lösung auf 1/2 Hoden. Vorgewärmte Objektträger.

Temperaturen eine hohe bis maximale Bewegung gefunden. Liegt jedoch die Untersuchungstemperatur unter der Aufbewahrungstemperatur, so ist die Bewegung häufig bedeutend gegenüber der bei dieser Aufbewahrungstemperatur möglichen Intensität herabgesetzt. Dieser Befund wird in gewissen Grenzen umso deutlicher, je weiter Aufbewahrungs- und Untersuchungstemperatur sich unterscheiden.

Durch die Einwirkung einer Aufbewahrungstemperatur von 40° C auf die Suspension im Wasserbad läßt sich nach etwa 2 Stunden bereits eine reversible Wärmestarre erzielen, wenn die Temperatur des bei der Beurteilung verwendeten Objektträgers um 10° C niedriger liegt. Kühlt man eine Probe dieser Suspension von 40° C auf 18° ab und untersucht nach 30 Min. die Motilität der Hodenspermatozoen auf einem Objektträger, der bei der Bestimmung eine Temperatur von angenommen 25° C hat, so zeigt sich eine verhältnismäßig hohe Beweglichkeit. Jedoch ist die Quantität und Qualität der Bewegung gegenüber der normalen ohne vorherige Erwärmung auf 40° C herabgesetzt. In der übrigen Suspension tritt bei der Aufbewahrungstemperatur von 40° C nach einer Zeit zwischen 5 u. 10 Stunden die reversible Bewegungslosigkeit ein. Nach mindestens 30 minütiger Abkühlung und erneuter Erwärmung auf die Untersuchungstemperatur von 40 - 42° C kann man häufig für kurze Zeit wieder eine Bewegung von einer für diese Temperatur und die übrigen Bedingungen charakteristischen Intensität erzielen. Da, wie wir aufgrund einiger Testversuche annehmen, die Verhältnisse bei Nebenhoden- und Ejakulatspermatozoen im Prinzip ähnlich sind, ist es überraschend, daß man bei der beträchtlichen Bedeutung für eine einwandfreie Motilitätsbeurteilung in der betreffenden Literatur keinerlei Hinweis auf diese Tatsachen findet.

In Suspensionen aller drei Spermatozoenformen, besonders deutlich aber in den aus Nebenhoden und Ejakulat gewonnenen, zeigt ein kleinerer Teil der Spermatozoen schon nach kurzer Einwirkung von Temperaturen um 40° C träge, charakteristische Bewegungen, während andere in derselben Suspension sich noch lange Zeit normal bewegen.

Abkühlung und Erwärmung müssen stets allmählich erfolgen, da plötzliche Temperaturänderungen von schockartiger Wirkung auf der Spermatozoenbewegung sind. Durch plötzliche Abkühlung wird die Zellatmung tierischer Ejakulatspermatozoen tiefgreifend beeinflußt (A n d e r s o n 1945). Das chemische Energiepotential des Spermatozoon wird im Falle der Bewegung über die Motorik des Schwanzes als kinetische

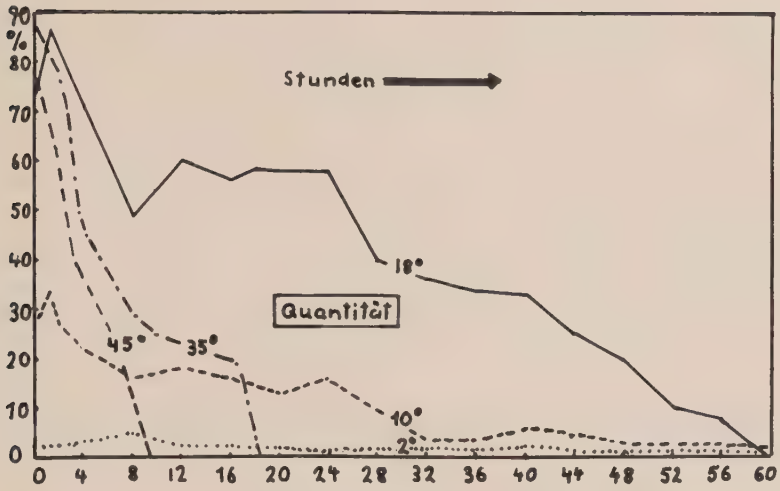


Abb. 15: Einfluß verschiedener Aufbewahrungstemperaturen auf die Dauer der Bewegung von Meerschweinchenhodenspermatozoen in isotonischer NH_4Cl-Lösung, P_H 6,0, 3,5 ccm Lösung auf 1/2 Hoden. Durch Heiztisch vorgewärmte Objektträger.

Energie freigesetzt. Bei 0° C ist die Spermatozoenbewegung aufgehoben. D.h. also, daß der Energiestrom, der den Bewegungsmechanismus in Aktion hält, zugunsten des chemischen Potentials blockiert ist. Eine unter anderen Voraussetzungen mögliche Umgehung des spermatomotorischen Organs unter Nutzung von ventilartigen Nebenschlußstoffwechselmechanismen ist in diesem Falle unwahrscheinlich. Bei Erhöhung der Temperatur nimmt die Bewegung wie in Abb. 13 dargestellt, ständig an Intensität zu, bis sie im Bereich zwischen 25 und 37° C ihr physiologisches Maximum erreicht. Das setzt voraus daß das spermatomotorische Organ aus dem Spermatozoenstoffwechsel ein in gleicher Weise ansteigendes Angebot potentieller chemischer Energie bzw. energieliefernder Stoffe bekommt und verarbeitet, oder daß bei einem gleichbleibenden Stoffwechselgeschehen die Sensibilität des Spermatozoenmotors gegenüber dem Druck potentieller Energie (in Gestalt des Bewegungsstoffwechsels etwa) durch die Temperaturänderungen modifiziert wird.

2. Die Bedeutung bestimmter Temperaturen für die Spermatozoen in vivo.

G r a n z o w (1932) untersuchte die Wärmeresistenz von Hoden- und Nebenhodenspermatozoen des Meerschweinchens, indem er die Tiere bei einer Temperatur von 30 - 35° C in einem Thermostaten hielt und so die Körpertemperatur auf 40° C erhöhte. Er fand, daß die Wärmeresistenz der Nebenhodenspermatozoen größer ist als die der Hodenspermatozoen. Die große Bedeutung bestimmte Temperaturen für den Aufbau und die Erhaltung der Funktionsfähigkeit menschlicher und zahlreicher anderer Säugetierspermatozoen beweist die thermostatische Behandlung der spermatozoenbildenden und speichernden Organe durch die Natur selbst. Die Unterbringung in den Hodensäcken hat bekanntlich eine Temperaturerniedrigung von 1 - 2° C gegenüber der normalen Bauchhöhlentemperatur zur Folge - eine außerordentliche Eigentümlichkeit dieses Organes, durch die in dieser Weise im gesamten Tierreich kaum ein anderes ausgezeichnet ist. Nach K n a u s (1954) ist eine Erhöhung der Temperatur menschlicher Hoden von wenigen Grad, wie sie durch Anwendung eines Suspensoriums auftreten kann, in der Lage, die Spermatogenese völlig zu unterbinden.

3. Zusammenfassung des Abschnittes I).

Spermatozoen aller Entwicklungsstufen sind in ihrer funktionellen bzw. entwicklungsbedingten Aktivität von der Temperatur beeinflußbar und zwar umso mehr, je mehr sie sich aus dem natürlichen Bereich zwischen 35 und 38° C entfernen. Niedrige Temperaturen, selbst solche unter 0° C sind anscheinend nicht so schädlich wie Temperaturen oberhalb 45° C.

II) Die Wirkung der Konzentration des umgebenden Mediums auf die Spermatozoen und ihre Bewegung.

Das Sperma stellt unter physiologischen Bedingungen für die Spermatozoenbewegung die optimale Voraussetzung dar. Von diesem mehr oder weniger abweichend befinden sich in der künstlichen Suspension neben den Spermatozoen und den Gewebsanteilen bei Hoden- und Nebenhodenpraeparaten zahlreiche Stoffe in ionen- und molekulardisperser, sowie in kolloidaler Lösung in verschiedenen Konzentrationen.

a. Die Gesamtkonzentration.

Der osmotische Druck der Körperflüssigkeiten und Gewebe stellt nach L e h n a r t z (1952) eine der wesentlichen Voraussetzungen dafür dar, daß besonders die labilen organischen Strukturteile wie die Eiweißkörper ihren Zustand unverändert erhalten und nicht einer Denaturierung anheimfallen.

Die Gefrierpunktserniedrigung des Ejakulates beträgt nach einer Stunde 0,56 - 0,58° C (G e i g y 1952) und entspricht also annähernd der des Blutes (0,547° C). Daher benutzten wir mit Ausnahme der Untersuchungen, die speziell die Wirkung von Änderungen der Gesamtkonzentration zum Gegenstand hatten, zur Herstellung der Hoden- und Nebenhodensuspensionen durchweg isotone Lösungen.

1. Der Einfluß verschiedener Konzentrationen vorwiegend niedermolekularer Substanzen auf die Spermatozoen und ihre Bewegung.

Fast alle Autoren führen die Beeinflussung der Spermatozoenbewegung durch Konzentrationsänderungen der Suspension auf osmotische Wirkungen zurück. H i r o k a w a (1909) konnte mit einer hypertonischen (2 %igen) NaCl-Lösung bei Rattennebenhodenspermatozoen im hängenden Tropfen keine Bewegung mehr erzeugen. Nach G e l l h o r n (1922b) läßt die ziemlich stark hypotonische besser als die isotonische Lösung die Spermatozoen unversehrt. Er verallgemeinert hier Beobachtungen an Kaltblüterspermatozoen und Meerschweinchennebenhodenspermatozoen, die er in verschieden konzentrierten Lösungen von Na_2HPO_4 suspendierte. Diese Meerschweinchenspermatozoen sollen "eine Verminderung des osmotischen Druckes auf 1/3 der Isotonie vertragen". Der gleiche Autor fand, daß Kaltblüterspermatozoen zur Erzielung eines optimalen Befruchtungsergebnisses mit stark hypotonischen Lösungen vorbehandelt werden, während die Eier optimale Befruchtungsergebnisse nach Vorbehandlung mit hypertonischen Lösungen aufwiesen.

G r a y (1922) fand bei Untersuchung der Zilienbewegung von Mytilus edulis plötzliches und vollständiges Sistieren der Bewegung bei Überschreiten einer bestimmten Konzentration des Mediums. Unterhalb dieser Konzentrationsgröße stellte er eine über 24 Stunden dauernde reduzierte Bewegung fest. Ferner beobachtete er unter dem Einfluß überhöhten osmotischen Druckes eine Beeinflussung der Amplitude des Zilienschlages und sieht hierin ein Anzeichen dafür, daß der Wasserver-

lust der Zelle nicht die rhythmische Freisetzung der Energie, sondern den kontraktilen Mechanismus selbst stört. B e l o n o s c h k i n (1939) schreibt, daß hypertonische Lösungen auf die Spermatozoen schädlich wirken. "Hypertonie sei überhaupt nur wenig wirksam." Als Stütze für diese Behauptung beruft er sich u.a. auf Veröffentlichungen von G e l l h o r n, G r a n z o w, S c h e u r i n g und R o e m m e l e.

Demgegenüber berichten J o e l und P o l l a k (1939), daß die Bewegungen menschlicher Ejakulatspermatozoen hypotone Suspensionslösungen schlecht vertragen. Weiterhin sollen sich manche Stoffe in isotoner Konzentration schädlicher als in hypertoner auswirken. Sie machen in ihren Formulierungen den bemerkenswerten Unterschied zwischen gleichen Konzentrationen verschiedener Stoffe!

M e t t e n l e i t e r (1925) weist auf den großen Einfluß geringer osmotischer Druckschwankungen hin. Nach Y a m a n e (1921) sollen isoosmotische Lösungen hinsichtlich der Erhaltung lebhafter Bewegung von Pferdeejakulatspermatozoen günstig wirken. Die optimale Konzentration für eine lebhafte Bewegung in NaCl-Lösung liege jedoch viel niedriger als die isoosmotische.

i.) In eigenen Untersuchungen.

Die Lösungen zu den Untersuchungen, die in Abb.: 16, 17 und 18 wiedergegeben sind, hatten folgende Konzentrationen:

NH_4Cl-Lösung	Konzentration
hypotone"	0,0041 g/ml
isotone"	0,0082 g/ml
hypertone"	0,0152 g/ml

Aus Abb. 16 geht hervor, daß bei Verwendung von Ammoniumchlorid die isotone Lösung zur Erzielung einer quantitativ und qualitativ lebhaften Anfangsbewegung deutlich überlegen ist. Die hypertone Suspension kann vereinzelt Bewegungswerte aufweisen, die der isotonen mindestens gleich sind, doch fällt dieses Ergebnis im Rahmen der Gesamtuntersuchung durch einige schlechtere Befunde ab. Die hypotone Lösung erwies sich als stets unterlegen. Auffällig ist hier,die Verschiebung in der

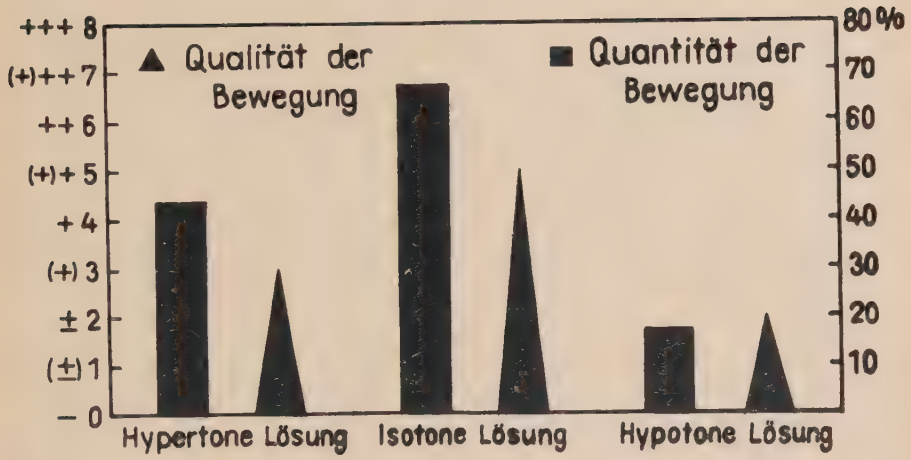


Abb. 16: Vergleich der Quantitäten und Qualitäten der Initialmotilität von Hodenspermatozoen des Meerschweinchens in hypertoner, isotoner u. hypotoner NH_4Cl-Lösung. Untersuchungstemperatur 24-26° C, P_H 6,0 - 6,2, 3,5 ccm Lösung auf 1/2 Hoden.

Relation zwischen Quantität und Qualität. Es scheint der Einfluß der hypotonen Lösung eine selektive Wirkung auf die Bewegung der Hodenspermatozoen auszuüben. Im allgemeinen liegt ja in den Suspensionen von Hodenspermatozoen ein "buntes Bewegungsbild" vor; d.h., daß von oszillatorischen Schwanzflimmern bis zum Beginn einer normalen Fortbewegung etwa der Stufe 7 ++(+) zahlreiche Schattierungen der Bewegung in ein und derselben Hodensuspension vorhanden sind. Das mag nicht zuletzt seine Ursache in dem Nebeneinander der verschiedenen, im Hoden natürlichen Entwicklungsstufen der Spermatozoen haben. Es liegt also der Schluß nahe, daß die NH_4Cl-Lösung als hypotones Dispersionsmittel durch eine allgemeine Depression der Bewegung insbesondere die normalerweise schwach beweglichen Spermatozoen und damit wahrscheinlich die jüngeren Entwicklungsstufen trifft und sie von der Bewegung großenteils ganz ausschaltet.

Zu dieser Untersuchung wurden Hodenteile von 11 verschiedenen Tieren suspendiert.

Zu den Untersuchungen, die den Abb. 16 und 17 zugrunde liegen, wurden

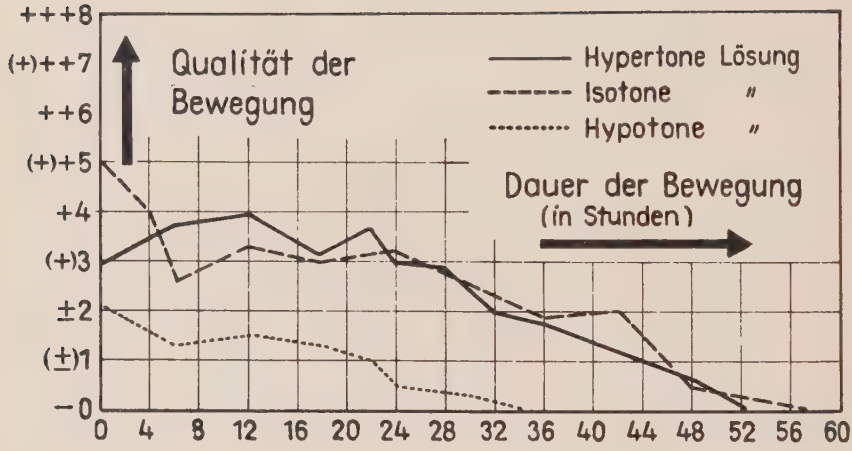


Abb. 17: Qualität u. Dauer der Bewegung bei verschieden konzentrierter NH_4Cl-Lösung als Dispersionsmittel (s.Text). Untersuchungstemperatur 23 - 26° C, Aufbewahrungstemperatur 18° C, P_H 6,0, 3,5 ccm Lösung auf 1/2 Hoden.

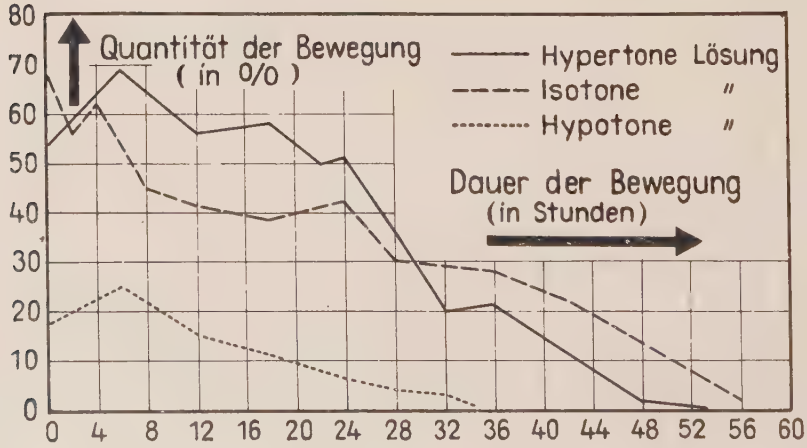


Abb. 18: Quantität u. Dauer der Bewegung bei verschieden konzentrierter NH_4Cl-Lösung als Dispersionsmittel (s.Text). Untersuchungstemperatur 23 - 26° C, Aufbewahrungstemperatur 18° C, P_H 6,0, 3,5 ccm Lösung auf 1/2 Hoden.

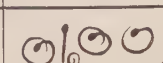
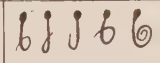
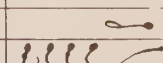
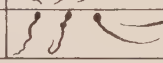
Hodenteile von 16 verschiedenen Meerschweinchen verwendet. Aus diesen Darstellungen geht die Unterlegenheit des hypotonen Dispersionsmittels noch deutlicher hervor. Weiter zeigt sich, daß die hypertone Lösung der isotonen bezüglich der Erhaltung der Dauer der Bewegung nicht viel nachsteht und im Hinblick auf die Quantität und Qualität der Bewegung innerhalb des normalen Schwankungsbereichs streckenweise sogar überlegen sein kann. Im Einzelversuch konnten wir auch hier häufig die Beobachtung machen, daß die Bewegung umso länger anhielt, je schwächer die Initialmotilität war.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß bezüglich der Gesamtkonzentration von Verdünnungs medien sowohl der Hoden- als auch Nebenhoden- und Ejakulatspermatozoen Isotonie angestrebt werden sollte. Die Konzentration der einzelnen Komponenten, die zusammen die Gesamtkonzentration ausmachen, wie kolloidale und echt gelöste Elektrolyte und Nichtelektrolyte, müssen aufgrund ihrer spezifischen Wirksamkeit sowohl aufeinander, als auch auf die Spermatozoen der verschiedenen Spezies und die verschiedenen Entwicklungsstufen der Spermatozoen speziell abgestimmt werden (vergl. Milovanov 1934). So kommt man zu den in ihren relativen Konzentrationen je nach den Erfordernissen zweckmäßig ausgewogenen künstlichen Spermatozoenmedien im Sinne der aequilibrierten Salzlösung von Jaques Loeb (s.S.78).

2. Morphologische Beeinflussung der Spermatozoen durch Änderung der osmotischen Verhältnisse in der Suspension.

Kölliker (1856) beobachtete bereits, daß Zusatz von reinem Wasser die Bewegung in Spermatozoensuspensionen lähmte und ösenförmige Deformationen der Schwänze, sowie schlangenartige Verwindungen hervorrief. Mit Hilfe konzentrierter Lösungen konnte er Spermatozoen "wiederbeleben". In unseren Versuchen gelang es höchst selten, Hodenspermatozoen des Meerschweinchens mit derartig ausgeprägten Deformationen auf diese Weise zu einer normalen Form und Bewegung zurückzubringen. Stigler (1914) beobachtete Ösenbildung an den Schwänzen menschlicher Spermatozoen. Er führte sie auf den Einfluß von Wärme zurück.

Anderson (1945) schreibt, daß osmotische Schwellung und Ausdehnung des Kopfes bei Säugetierspermatozoen nie beobachtet worden sind und daß die Schwänze in hypertonischen Lösungen irreguläre Zick-Zack-Krümmungen aufweisen, während sie in hypotonischen Lösungen, be-

Versuch Lfd. Nr.	Gelöster Stoff d. Suspensionslsg.	Konzentration d. Suspensionslsg.	Aktuelle Reaktion d. Suspension	Deformationsbild	Initialbewegung in der Suspension	Bemerkung
83 / 7	—— (Aqua dest.)	0 %	P_H 6,6		0 %	Fast alle freien Sperm. in dieser Form veränd. Sie sind in wenigen Min. bewegungslos
Xa4 / 2	NH_4Cl	0,32 %	P_H 6,1		Nach 90 Min. 0 %	~90% der freien Sperm. in dieser Form verändert
85 / 3	Na Cl	0,32 %	P_H 6,2		Nach 90 Min. 10 % (±)	60-70% der freien Sperm. in dieser Form verändert
C_{11} / 4	NH_4Cl	0,81 %	P_H 6,1		68 % ++	Sperm. mit Endösen bis 10%; 60-80% gebogen u. oft gut beweglich
86 / 5	Na Cl	0,9 %	P_H 6,3		66 % ±	Etwa bis 10 %
Xa7 / 6	NH_4Cl	1,52 %	P_H 5,9		54 % (+)	Im Durchschnitt 40-60% deformiert
87 / 7	Na Cl	1,52 %	P_H 6,3		50 % (±)	Im Durchschnitt ~40 % deformiert

Hypotonische Lösung — Isotonische Lösung — Hypertonische Lösung

Abb. 19: Deformationen der Schwänze von Hodenspermatozoen in Suspensionslösungen verschiedener Konzentrationen (3,5 ccm Lösung auf 1/2 Meerschweinchenhoden, Aufbewahrungstemperatur 21° C, Untersuchungstemperatur 22 - 26° C).

sonders in destilliertem Wasser gewundene Ringe bilden. Diese Beobachtungen decken sich ziemlich genau mit unseren Befunden an den Hodenspermatozoen des Meerschweinchens (vgl. Abb. 19). Aus unseren Versuchen ergab sich also, daß derartige Deformationen der Spermatozoenschwänze sich sowohl aus der osmotischen Konstellation der Suspension als auch aus der veränderten stofflichen Zusammensetzung des Mediums herleiten können. Daher ist es also in einer großen Zahl der Fälle nicht richtig, derartig veränderte Spermatozoen im embryologischen Sinne zu den Mißbildungen zu rechnen.

3. Das Sperma bzw. die künstlich modifizierte Spermatozoensuspension als komplexes Kolloidgefüge.

Nach M a n n (1949) sind ähnlich wie im Blutserum und den Blutkörperchen im menschlichen und tierischen Samenliquor und in den festge-

formten Bestandteilen des Spermas zahlreiche Stoffe in kolloidaler Form gelöst. Diese Ähnlichkeit besteht hauptsächlich nur in physikalischer Beziehung, chemisch bestehen hier weitgehende Unterschiede. Dieser Tatsache kommt bekanntlich eine hohe Bedeutung zu, da wesentliche Abläufe in den Lebensvorgängen der Zelle an bestimmte kolloidale Systeme gebunden sind. Eiweiße, Polysaccharide und eine Reihe von Lipoiden, sowohl im Zellstroma als im Plasma sind aufgrund der Größe bzw. sonstiger physikalischer Eigenschaften ihrer Moleküle bzw. deren Polymere höchstwahrscheinlich kolloidal gelöst. Vor allem aber sind die zahlreichen Fermente in ihrer Schlüsselstellung bei allen Stoffwechselabläufen durch ihre Eiweißträger in dieses kolloidale Zellgefüge eingebaut und heute bereits großenteils als Kolloide nachgewiesen.

In allen Lösungen wird durch Kohärenzkräfte die Verschieblichkeit der kleinsten Teilchen erschwert. Dieses ist besonders bei den Emulsionskolloiden der Fall. Es steht hiermit die Viskosität der Lösung in enger Beziehung. Verglichen mit Wasser = 1 beträgt der Viskositätsgrad des Blutes 3,6 - 5,4 und der des menschlichen Spermas 6,54 bei 20° C (G e i g y 1952). Der kolloidosmotische Druck des Blutes spielt trotz des geringen Anteils von 7 % am osmotischen Gesamtdruck für die Organe und für deren Wasserhaushalt eine wichtige Rolle (L e h n a r t z 1952). Für die Spermatozoen scheinen ähnliche Verhältnisse von Bedeutung zu sein.

4. Elektrische Verhaltensweisen von Spermatozoen und Medien.

Die Stabilität der biologischen Kolloide beruht im wesentlichen auf der elektrischen Ladung der Kolloidteilchen, die durch Elektrophorese nachgewiesen und gemessen wird. Die elektrischen Kräfte werden einesteils dadurch erklärt, daß die Kolloide ähnlich den molekular- bzw. ionendispersen Elektrolyten der homogenen Systeme dissozieren und echte Ionen allerdings von oft großen Dimensionen bilden; andernteils weiß man auch die Vorstellungen zu begründen, daß die Kolloidteilchen entweder adsorptiv oder aufgrund ihres Entstehungsmechanismus andere Ionen festhalten und sich so mit elektrischer Ladung versehen. Darüberhinaus sind hiermit in Zusammenhang die an den Zellmembranen und Grenzflächen sich entwickelnden Kräfte und Reaktionen für die elektrischen Verhältnisse an den Spermatozoen von großer Bedeutung.

Spermatozoen aus dem Hoden, also jugendliche Spermatozoenformen, haben

eine sehr schwache negative Ladung und sind außerordentlich leicht umladbar. Schon ganz kurze Zeit nach dem Tode des Tieres, meist sofort mit dem Absinken der Körpertemperatur, wird ihre Wanderung im elektrischen Feld kathodisch (R e d e n z, 1925). Ihre Ladung reagiert sehr empfindlich auf Veränderungen im Medium. Die Spermatozoen aus der Cauda epidymidis von Stier und Ziegenbock sind stets negativ geladen (R e d e n z, 1925; M i l o v a n o v, 1934). Das Säugetierspermatozoon soll eine kleine, stark negative Zone am vorderen Kopfende haben, während der übrige Teil und der Schwanz eine positive Oberflächenladung besitzen. Der Kern und die Oberfläche des Eies weisen positive Ladung auf. Daher werden die Kopulationsvorgänge zwischen Spermatozoen und Ei durch diese elektrostatischen Kräfte erklärt (M i l o v a n o v, 1934; B e l o n o s c h k i n, 1939). Die Größe der elektrischen Ladung und ihr Vorzeichen kann durch Änderungen des Mediums variiert werden. Die Hauptfaktoren, die hierauf Einfluß nehmen, sind die Wasserstoffionenkonzentration und metallische Kationen (A n d e r s o n, 1945). Die Wanderungsgeschwindigkeit der Spermatozoen zur Anode nimmt im Verlaufe der Bewegung ab. Bei Verwendung unverdünnten Nebenhodensekretes als Vehikel nimmt dessen Leitfähigkeit im Verlaufe der Spermatozoenbewegung zu. Es findet also offenbar parallel mit der Bewegung eine Elektrolytverschiebung aus dem Spermatozoon ins Medium statt. Hier ist die Beobachtung von R e d e n z (1925) interessant, nach der die Leitfähigkeit des Bullenhodensekretes gegenüber der des Nebenhodensekretes um eine Zehnerpotenz höher liegt, obgleich kein wesentlicher Unterschied in der Wasserstoffionenkonzentration feststellbar ist. Aus diesem Grunde machte er die Konzentration an übrigen Ionen für diese Leitfähigkeitsdifferenz verantwortlich. Die relative Elektrolytarmut des Nebenhodensekretes, sowie seine hohe Viskosität im Hinblick auf die funktionelle Bedeutung der Nebenhoden als optimaler Spermatozoenspeicher führen den Autor zu der Ansicht, daß Elektrolytreichtum eines Mediums einer quantitativ wie qualitativ hohen Beweglichkeit und demgegenüber eine hohe Konzentration an viskositätssteigernden Kolloiden der Erhaltung einer hinreichenden Bewegung über längere Zeit förderlich seien. Ferner schließt R e d e n z (1928) aus seinen Untersuchungsbefunden, daß der isoelektrische Punkt des Eiweißkörpers (offenbar die "lipoid-capsule" der Angloamerikaner (vgl. M a n n, 1949), der nach der Ansicht verschiedener Autoren die Spermatozoen mit einer Hülle überzieht, in stark saurem Gebiet liegt. So

werden also das Spermatozoon als Ganzes oder größere Teile davon als kolloidale Einheiten betrachtet. R e d e n z (1925) stellte in diesem Sinne fest, daß eine Erhaltung der Bewegung dann begünstigt wird, wenn nicht durch stark dissozierte Salzlösungen eine Entladung des elektronegativen Spermatozoon hervorgerufen wird. Zufuhr von kolloidalen Substanzen zur Spermatozoensuspension soll neben dem mechanischen Bremseffekt durch Hemmung der Ionenbeweglichkeit in diesem Sinne wirksam sein. R e d e n z (1925) kommt zu der bemerkenswerten Feststellung, daß nicht so sehr die alkalische Reaktion, als vielmehr eine ausgeprägte negative Ladung das gemeinsame Erfordernis für die Bewegung sein könnte. Diese auf exakten Beobachtungen und Schlußfolgerungen beruhenden Erkenntnisse scheinen erst kürzlich - also 30 Jahre später - in den Untersuchungen F l e c k e n s t e i n s (1955) über die Elektrolytverschiebung bei der Muskelaktion und den damit verbundenen elektrischen Zustandsänderungen der Muskelfaser ausreichende Bestätigung und Erweiterung erfahren zu haben. Lord R o t h s c h i l d veröffentlichte 1948 Untersuchungen über elektrische Veränderungen im Zusammenhang mit der Spermatozoenbewegung.

Wie die elektrischen Ladungen der Kolloidteilchen in kolloidalen Lösungen ganz allgemein durch den Salz- bzw. Ionengehalt und die Wasserstoffionenkonzentration und in einigen Fällen sogar durch die Temperatur beeinflußt werden, so wird also auch die Ladung der Spermatozoen durch diese Merkmale des Mediums bestimmt. Dieses wird besonders durch die Agglutinationsreaktionen der Spermatozoensuspensionen augenfällig demonstriert.

i) Die Agglutination der Spermatozoen.

Ganz allgemein versteht man unter Agglutination die Zusammenballung beliebiger korpuskulärer Elemente in beliebigen Suspensionsmitteln. Der physiko-chemische Zustand des im Falle der Agglutination isoelektrischen Suspensionsmittels gestattet den korpuskulären Bestandteilen der Suspension etwa durch Änderung des abstoßenden elektrostatischen Zustandes dieser Teilchen, ihre Oberflächenkräfte adsorptiv wirksam werden zu lassen.

Normalerweise agglutinieren Nebenhoden und Ejakulatspermatozoen in mit Elektrolytlösungen verdünnten Suspensionen, indem sie mit den Köpfen aneinanderhaften und sich entweder parallel legen, oder sternförmige Figuren bilden (vgl. M i l o v a n o v und S e l i v a n o v a 1932). In solchen Suspensionen sahen wir nie, daß Spermato-

zoenköpfe mit Spermatozoenschwänzen agglutinierten. Dies ist offenbar ein Zeichen dafür, daß weniger große Ladungsunterschiede zwischen Spermatozoenkopf und Spermatozoenschwanz bestehen bzw. daß die elektrische Ladung unterschiedlich über die Oberfläche des Spermatozoenkopfes verteilt ist. (vgl. M i l o v a n o v 1934).

Anders verhalten sich die Hodenspermatozoen. Hier fanden wir die Agglutination niemals in der ausgeprägten Form wie bei den Nebenhoden und Ejakulatspermatozoen. Dafür agglutinierten die Spermatozoenköpfe - wenn überhaupt - offenbar auch sehr leicht mit Spermatozoenschwänzen und mit den übrigen Zellen der Hodensuspension. Dies schien uns besonders für die schwach beweglichen Spermatozoen in NaCl und Na_2SO_4-Lösung zuzutreffen. Man muß jedoch hier sorgfältig zwischen Agglutination und dem normalen Verhaftetsein der Hodenspermatozoen mit dem Gewebe unterscheiden, da ein Teil stets wohl auch aus entwicklungsphysiologischen Gründen sich nur durch besondere Maßnahmen davon trennen läßt. Hodenspermatozoen neigen also viel weniger zur Agglutination als die älteren Spermatozoenformen. Verändert man die physiko-chemischen Bedingungen in der Suspension bedeutend, so tritt bei den Hodenspermatozoen Massenagglutination mit den übrigen Anteilen der Gesamtsuspension ein, während Ejakulat- und Nebenhodenspermatozoen sich leicht schon eher in der beschriebenen Weise selektiv aneinanderlagern.

Nach M i l o v a n o v und S e l i v a n o v a (1932) läßt sich Agglutination durch isotonische Glukoselösungen bei Widder-Ejakulatspermatozoen verhindern. Auch Hodenspermatozoen des Meerschweinchens und Nebenhodenspermatozoen agglutinierten nach unseren Beobachtungen in diesen Lösungen nicht. Lösungen mit einem hohen Prozentsatz an Phosphatpuffern, von $NaHCO_3$, NaCl und Na_2SO_4 begünstigen die Agglutination. Im allgemeinen verstärkt sich die Agglutinationsneigung mit der Abnahme der Wasserstoffionenkonzentration, d.h. also mit Zunahme der Alkalität der Suspension. Diese Befunde stehen unter den genannten Einschränkungen mit unseren Beobachtungen an Meerschweinchenhodenspermatozoen in Einklang. Die Autoren führen die Agglutination auf die Elimination der Ladung durch die Wirkung der Suspensionselektrolyte zurück, da agglutinierte Spermatozoen im elektrischen Feld nicht wandern. Die Bewegung agglutinierter Spermatozoen ist meistens reduziert. M e t t e n l e i t e r (1925) stellt Agglutination in Spermatozoensuspensionen ganz allgemein beim Verlassen des Neutralpunktes

fest, und nach K a l w a r y s k i (cit. b. B e l o n o s c h k i n 1939) ist die Agglutination nicht von der CO_2-Spannung abhängig.

Nach M i l o v a n o v (1934) sind die agglutinativ wirksamsten Ionen die zweiwertigen Kationen (Ca und Mg) und besonders die drei- und vierwertigen, die nicht nur wie die einwertigen (Na und K) die negative Ladung zu eliminieren, sondern die Spermatozoen sogar umzuladen vermögen.

G e l l h o r n (1921) fand, daß die größte Wirkung bezüglich einer groben, makroskopisch sichtbaren Agglutination (Massenagglutination) bei Froschspermatozoen durch geringe Konzentrationen von $FeCl_3$ und in ähnlicher Weise auch durch Blei, Aluminium und Zinksalze erzielt wurde. Mikroskopisch bot sich ihm das Bild netzartig aufeinandergepackter Spermatozoen. Bei der Kombination von KCl und $FeCl_3$ zeigte sich körnige Auflösung der Spermatozoen. Cobalt, Cadmium, die Alkali und Erdalkalisalze seien in dieser Form unwirksam. Er berichtet, daß Y a m a n e die $FeCl_3$-Agglutination auch bei Warmblüter- (Pferde)spermatozoen beobachtete.

Nach K o k a t o (cit. b. B e l o n o s c h k i n, 1939) treten sowohl die spezifische (selektive) Agglutination als auch die Massenagglutination (die er Massenkoagulation nennt) in charakterischer Nähe der isoelektrischen Punkte der verschiedenen im Spermatozoon vorhandenen Eiweißkörper auf (vgl. Übersicht 1). Er führt alle diese Reaktionen auf Ausfällungen von kolloidalen Substanzen des Spermatozoenkopfes zurück. Zumindest scheinen aber bei der Reaktion in der $FeCl_3$-Lösung andere Körperregionen der Spermatozoen beteiligt zu sein, sodaß man annehmen muß, daß sich unter dem Begriff Massenkoagulation bzw. Massenagglutination quantitativ und qualitativ verschiedene Stufen zusammengefaßt werden. Bei unseren Untersuchungen an Hoden und Nebenhodenspermatozoen des Meerschweinchens erwies sich, daß agglutinierte Spermatozoen nach Minuten oder Stunden sich allein wieder trennen können und daß die durch Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration in den stark sauren bzw. stark alkalischen Bereich hervorgerufenen Massenagglutinationen - wenn auch unter bleibender Schädigung der Bewegung - durch Reneutralisation wieder rückgängig gemacht werden können. In diesen Fällen wird es sich wahrscheinlich um eine Flockungsreaktion nicht aber um eine irreversible Koagulation handeln.

P_H	Spermatozoen		IP bei P_H	Nucleinsäuren Chromatin Lecithin	Albumin Globulin	Protamine
	Kaninchen	Pferd				
2.2 - 3.6	–	XX	~3	XX	—	—
2.2 - 3.8	XX	—	~3	XX	—	—
3.6 - 6.0	X	—	5.6 - 5.8	—	XX	—
5.0 - 6.4	—	X	5.6 - 5.8	—	XX	—
< 8.23	X	—	9.72 - 12.41	—	—	XX
< 8.30		X	9.72 - 12.41	—	—	XX

X = Agglutination XX = Massenkoagulation

Übersicht 1: Zusammenstellung der Agglutinationsreaktionen von Spermatozoen verschiedener Säugetiere in Abhängigkeit vom P_H, die bei den ebenfalls dargestellten isoelektrischen Punkten einiger Eiweißkörper gehäuft auftreten (Nach K o k a t o).

Über die Agglutination läßt sich zusammenfassend sagen, daß sie nach Ansicht von zahlreichen Autoren (M i l o v a n o v, 1934; B e l o n o s c h k i n, 1939 u.a.) für den Befruchtungsvorgang von großer Bedeutung ist, während bereits agglutinierte Spermatozoen ihre Befruchtungsfähigkeit verlieren. M i l o v a n o v (1934) schlägt vor, die Agglutination in Spermatozoensuspensionen durch Zusatz von isotonen Nichtelektrolyten (Glucose, Glycocoll) zu verhindern.

5. Die Verdünnung mit echt gelösten Elektrolyten unter Wahrung der Isotonie der Spermatozoensuspension.

Die Dauer der spontanen Spermatozoenbewegung ist umgekehrt proportional dem Grade der isotonen Verdünnung der Spermatozoensuspension (G r a n z o w 1932). H i r o k a w a (1909) stellte an Rattenneoenhodenspermatozoen fest, daß die "Lebensdauer" bei steigender Verdünnung mit isotonischer NaCl-Lösung abnehme. Bis zur 5-fachen Verdünnung war dieser Einfluß jedoch nicht signifikant. Auch B e l o n o s c h k i n (1934) schreibt, daß sich die "Lebensdauer"der Spermatozoen" mit wachsender Verdünnung in "physiologischen Lösungen" vermindere. Nach G r a n z o w (1932) hat selbst isotone, vorsich-

tig ausgeführte Verdünnung mit Ringerlösung bei menschlichem Ejakulat irreparable Schädigungen der Spermatozoen zufolge, obgleich menschliche Spermatozoen stärkere Verdünnungen als Meerschweinchenspermatozoen vertragen. Auch R e d e n z (1924) fand bei Säugetierspermatozoensuspensionen, die er mit Ringerlösung verdünnte, ein Abnehmen der Bewegungsdauer. Jedoch konnte er infolge zu hoher Verdünnung gelähmte Spermatozoen durch Zusatz von Alkali wieder beweglich machen.

Es scheint also festzustehen, daß durch Überschreiten der von der Art und Entwicklungsstufe der Spermatozoen, sowie von der Beschaffenheit des Verdünnungsmittels abhängigen Verdünnungsschwelle eine Schädigung der Spermatozoen hervorgerufen werden kann, die schließlich zur irreparablen Bewegungslähmung führt. R e d e n z (1928) stellt sich die Wirkung größerer Mengen Verdünnungsflüssigkeiten so vor, daß sie die Nebenhodenspermatozoen ihres Sekretmantels entkleiden, oder dessen Eigenschaften ändern. G r a n z o w (1932) führt zur Bestätigung dieser Ansicht an, daß die Spermatozoen ihren Säureschutz verlieren.

B e l o n o s c h k i n (1934 u. 1939) gibt an, daß ein optimales Maß für lebhafte Bewegung von Ejakulat- bzw. Nebenhodenspermatozoen ohne Verdünnungsschädigung zwischen 1 : 2 und 1 : 5 facher Verdünnung des Sekretes liege, während M e t t e n l e i t e r (1925) eine optimale Verdünnung bei einem Verhältnis von 1 : 10 findet.

Nach R e d e n z (1928) wird das Spermatozoon erst im Nebenhoden mit der schützenden und "vitalisierenden" Hülle umgeben. Wir stellten aber durch eingehende Untersuchungen fest, daß auch für die Dauer, Intensität, Quantität der Bewegung von Hodenspermatozoen und nach D ö p f m e r (1955) und G r o ß e - S e g e r a t h (1956) auch für die Freisetzung einer möglichst großen Zahl von Spermatozoen prc Verdünnungseinheit Meerschweinchenhodensuspension durchaus diese Verdünnungsschwelle besteht, die für alle diese Kriterien etwa zwischen einem Verdünnungsverhältnis von 1 : 3 und 1 : 10 liegt (vgl. Abb. 20). Hieraus kann man schließen, daß entweder die Spermatozoen bereits im Hoden einen Kolloidschutz aufweisen, der allerdings dann nicht in dem bisherigen Maße mit der Änderung der Spermatozoeneigenschaften im Nebenhoden in Verbindung gebracht werden kann, oder die Verdünnungslähmung beruht auf anderen Voraussetzungen als auf der Überwindung des Kolloidschutzes. Die erste Auffassung würde durchaus zu der Ansicht Y o u n g s (1931) von der endogenen Weiterentwicklung der Spermato-

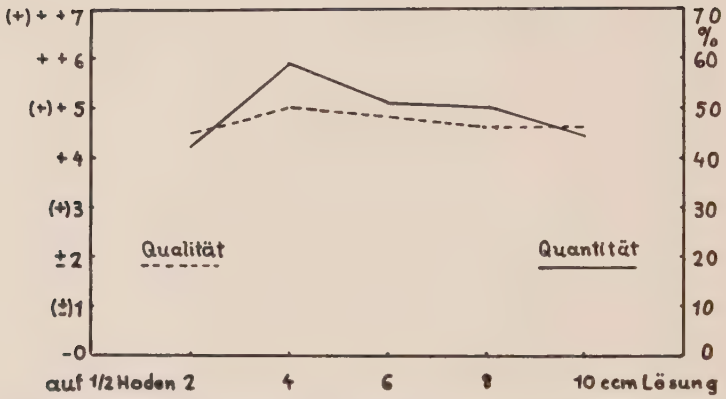


Abb. 20: Quantität und Qualität der Initialbewegung von Hodenspermatozoen des Meerschweinchens in Abhängigkeit von verschiedenen Verdünnungen. Durchschnittsergebnisse von 27 Versuchsreihen und 27 verschiedenen Tieren. Verdünnungslösung: Isot. NH_4Cl, P_H 6,1, Untersuchungstemperatur 22° C.

zoen im Nebenhoden passen. Sie steht jedoch zu der Ansicht von Redenz (1928) und Belonoschkin, die den Einfluß des Nebenhodensekretes für ausschlaggebend halten, im Gegensatz. Für Hoden-, Nebenhoden- und Ejakulatspermatozoen besteht eine Verdünnungsschwelle, die durch Art und physikochemischen Zustand des Verdünnungsmittels (Ionenkonstellation, Wasserstoffionenkonzentration, Temperatur usw.) beeinflußt werden kann. Diese Verdünnungsschwelle darf ohne Schaden für die Quantität, Qualität und Dauer der Bewegung nicht überschritten werden. Für die Hodenspermatozoen wird nach Döpfmer (1955) und Große-Segerath (1956) die Möglichkeit der Freisetzung einer Höchstzahl pro Gewichtseinheit Hodensubstanz durch Überschreiten dieser Verdünnungsschwelle ebenfalls negativ beeinflußt.

6. Die Verdünnung der Spermatozoensuspension mit kolloidal gelösten Stoffen.

Die Hodenkanälchen sollen auf einen schnellen Durchgang der Spermatozoen eingerichtet sein. Den eigentlichen Ort der Spermatozoensammlung und Aufbewahrung stellt, bevor diese in größeren Schüben zur Ejakulation kommen, der Nebenhoden besonders in seinem aufgewundenen Teil

dar. Da sich die Spermatozoen hier oft monatelang bewegungs- und befruchtungsfähig halten, muß man annehmen, daß sie im Nebenhodengang zur Erhaltung ihrer funktionell einzigartigen Qualitäten optimale Verhältnisse vorfinden. Der allgemeine Unterschied zwischen dem Hoden- und Nebenhodeninhalt besteht nun darin, daß ersterer elektrolytreicher und weniger viskos bzw. kolloidhaltig ist. Hierbei ist ein Großteil der Zunahme der Viskosität bzw. an kolloidalen Stoffen im Nebenhoden der beträchtlichen Erhöhung der Spermatozoenkonzentration zuzuschreiben. Es tritt also ein Prinzip zutage, dem man bei Untersuchungen in vitro immer wieder begegnen kann: die hochviskose, kolloidale Lösung erhält die Bewegungsdauer der Spermatozoen besser, während die vorwiegend echte Lösung von Elektrolyten die Initialbewegung besser zu steigern imstande ist. Die Steigerung der Initialbewegung durch die echte Lösung kommt bei den Verhältnissen im Hoden nicht so deutlich zum Ausdruck, da offenbar die Hodenspermatozoen gegenüber Änderungen der ionalen Verhältnisse in ihrem Medium noch nicht so sensibel sind wie die Nebenhodenspermatozoen und schon aus diesem entwicklungsbedingten Grunde eine ausgeprägte "kolloidale Bewegungsbremse" entbehren können. In Übersicht 2 werden eigene Untersuchungsergebnisse über die Bewegung von Hodenspermatozoen in gewebseiweißreichen Lösungen angegeben. Die hierzu verwendeten Suspensionen wurden dadurch gewonnen, daß wir den in 3 ccm Versuchslösung zerkleinerten halben Hoden völlig in der Suspension ließen. Auch die großen Gewebspartikel wurden nicht entfernt. Die Bewegungen, die in diesen Suspensionen beobachtet wurden, waren oft von erstaunlicher Dauer; jedoch war die Intensität und Quantität besonders kurz vor dem völligen Sistieren so gering, daß die Trennung von der passiven Bewegung durch die strömende Flüssigkeit unter dem Deckglas schwierig war. Die Intensität ging selten über ein schwaches Flimmern des Schwanzes hinaus.

Nach R e d e n z (1925) bewegen sich Spermatozoen in Salzlösungen von großer Leitfähigkeit nur kurze Zeit. Die Zurückdrängung der Dissoziation von Elektrolyten sei der Bewegungsdauer förderlich. In gleichem Sinne wirkte die Hemmung der Ionenbeweglichkeit durch kolloidal gelöste Stoffe, bzw. durch die Erhöhung der Viskosität der Suspension.

Das Muzin in den Brunstsekreten weiblicher Tiere soll nach M i l o v a n o v (1934) die Aufgabe zukommen, die Agglutination zu verhin-

	Meerschweinchen		Ratten	
Lösung	Initialmotilität Qual. Quant.	Dauer der Bewegung bis zu Stdn.	Initialmotilität Qual. Quant.	Dauer der Bewegung bis zu Stdn.
LocKe	(+) 70 %	57	± 52 %	29
Ringer	± 55 %	49	(±) 49 %	28
Baker	± 47 %	25	(±) 50 %	16
Baker-serum	± 54 %	50	± 53 %	27
NaCl	± 66 %	32	± 38 %	19
Joël	(±) 52 %	18	(±) 22 %	8
Ringer-Glukose	(±) 34 %	10	(±) 27 %	15

Übersicht 2: Quantität und Qualität der Initialbewegung und Dauer von Bewegungen des Schwanzes von Hodenspermatozoen bei völlig suspendiertem, nicht durch Mull koliertem Hoden in verschiedenen Lösungen. Untersuchungstemperatur 24° C, Aufbewahrungstemperatur 19° C, P_H 6,3 - 6,7.

dern. Er untersuchte den schutzkolloidalen Effekt mehrerer kolloidaler Substanzen auf die Spermatozoen und ordnete sie in der Reihenfolge ansteigender Schutz- bzw. Antiagglutinationswirkung an:

1. Gummi arab.
2. Gelatine
3. Eiweiß
4. alkalisches Eiweiß
5. alkalisches Eiweiß vom Fleisch oder Blutserum
6. Muzin des Eberspermas

Von H a y a s h i (1945/46) wurden Stoffe beschrieben, die im Samenplasma von Seeigeln (Arbacia punctulata) auf die Spermatozoen schützend wirken.

Nach all diesen Ergebnissen nun darf eine gewisse Grenzkonzentration an kolloidalen Stoffen eines natürlichen Spermatozoenmediums - gleichgültig ob es sich um Hoden-, Nebenhodengewebsanteile und deren Sekrete oder um Spermaserum bzw. Samenplasma handelt - nicht unterschritten werden, damit die schutzkolloidale Wirkung nicht verloren geht. Hierdurch findet der - für die verschiedenen Spezies und Verdünnungs-

mittel natürlich unterschiedliche - Abfall zunächst der Bewegungsdauer und dann auch der Qualität der Initialbewegung nach Überschreiten einer gewissen Verdünnungsgröße wenigstens zum Teil eine Erklärung.

Einige der kolloidalen Stoffe, z.B. einige Eiweißlösungen können die Zellatmung unterhalten und die Dauer der befruchtenden Wirksamkeit der Seeigelspermatozoen um ein Vielfaches verlängern. Dieser Effekt wird aber nicht auf nutritive Qualitäten dieser Stoffe, sondern auf deren Einwirkung auf die Spermatozoenoberfläche zurückgeführt. Nach S a r k a r u Mitarb. (1947) unterscheidet sich die Zusammensetzung der Bullenspermatozoen an Aminosäuren von der des umgebenden Plasmas mit Ausnahme von Arginin, Tryptophan und Leucin nicht, obgleich doch die Proteine dieser beiden Samenbestandteile sowohl in ihrer Funktion, als auch in ihren physikalischen Eigentümlichkeiten so beträchtlich differieren.

Aufgrund der neuen Erkenntnisse von T y l e r u. Mitarb. (1949/51) und M e t z und D o n o v a n (1950) wird das Bild der im allgemeinen mehr äußerlich-physikalischen Wirkung der kolloidalen Stoffe auf die Spermatozoen zugunsten spezifisch reaktiver Wirkung von einzelnen Komponenten unter ihren Bestandteilen - zumindest was die Proteine angeht - verändert bzw. sehr wesentlich ergänzt. Die Autoren stellten nämlich als die Agentien, die im Sinne einer Bewegungssteigerung und 50-fachen Verlängerung der Dauer der Fähigkeit zur Befruchtung und Bewegung bei Seeigelspermatozoen wirken, eine Reihe von Aminosäuren fest. Als wirksam erwiesen sich nach M e t z und D o n o v a n (1950) die meisten der α-Aminosäuren und Peptide. Diese Autoren konnten jedoch über den Wirkungsmechanismus der Aminosäuren keine Aussagen machen. Nach T y l e r und Lord R o t h s c h i l d (1951) trat in mit Glyzin bereiteten Spermatozoensuspensionen trotz erheblicher Steigerung der Bewegung und trotz der Tatsache, daß Seeigelspermatozoen ihre Bewegungsenergie vorwiegend aus oxydativen Prozessen beziehen, eine Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs nicht ein. Vielmehr zeigte sich sogar ein signifikanter Abfall in der O_2-Verbrauchsrate der Initialbewegung. Ferner ist in Aminosäurensuspensionen die Intensität der Initialbewegung auch unter anaeroben Bedingungen höher als in der aminosäurefreien Kontrollsuspension. Hieraus schlossen T y l e r und R o t h s c h i l d, daß entweder die Aminosäure auf irgendeinem anaeroben Wege als energielieferndes Sub-

strat genutzt wird, oder daß sie auf irgendeine Weise die Wirksamkeit der normalen oxydativen Prozesse erhöht. Die Untersuchungen von T y l e r und Mitarbeitern (1951) ergaben unter aeroben wie anaeroben Bedingungen keinen Anhalt für eine signifikante Ammoniak- bzw. Harnstoffproduktion. Auch in Gegenwart von Glycin fand sich kein Anstieg anaerob glykolytischer Prozesse sowie der Ammoniak- und Harnstoffbildung, wie auch Zusatz von Aminosäuren zusammen mit glykolysierbarem Zucker die glykolytische Aktivität bzw. die CO_2-Produktion der Seeigelspermatozoensuspensionen nicht zu steigern vermochte. Auch spezielle Untersuchungen der Möglichkeiten eines Verbrauches von Aminosäuren durch diese Spermatozoen ergaben kein merkbares Verschwinden derselben aus der Suspension. Daraus schlossen die genannten Autoren, daß die Aminosäuren nicht als energielieferndes Substrat dienen, sondern daß ihre Gegenwart die Spermatozoen befähigt, ihr endogenes Substrat für die Erhaltung der Befruchtungskapazität und der Bewegung mit mehr als normaler Wirksamkeit auszunutzen. T y l e r und A t k i n s o n (1949) kamen darüberhinaus zu der Vermutung, daß auch die Aminosäuren noch nicht das eigentliche in diesem Sinne wirksamen Agens sind. Sie halten es für möglich, daß das Ammoniak, das nach ihren Befunden bei Seeigelspermatozoen einen ähnlichen Effekt wie die Aminosäuren hervorbringt, die Ursache dieser Aminosäurenwirkung sei. Das Ammoniak aus diesen Aminosäuren soll zwar kontinuierlich, aber in so kleinen Mengen freigesetzt werden, daß es chemisch nicht leicht zu fassen ist.

Der Vergleich unserer Befunde an den Hodenspermatozoen des Meerschweinchens und des Menschen mit denen T y l e r s und seiner Mitarbeiter an Seeigelspermatozoen bringt eine eindeutige Stütze der Schlußfolgerungen dieser Autoren. Unsere Erfahrungen mit Ammoniumchlorid entsprechen den Ergebnissen - zumindest hinsichtlich der Bewegung - die mit Aminosäuren und Ammoniak gewonnen wurden. Es sind demnach mit großer Wahrscheinlichkeit Ammoniumionen für wenigstens einen Großteil der Aminosäurenwirkung verantwortlich.

Ein Hinweis für die Lokalisation eines Angriffspunktes der Ammoniumionen im komplexen Stoffwechselgeschehen, findet sich bei der Berücksichtigung folgender Angaben. Seeigelspermatozoen beziehen nach T y l e r und Lord R o t h s c h i l d (1951) ihre Bewegungsenergie hauptsächlich aus sauerstoffverbrauchendem Metobalismus. Nach R e d e n z weisen Säugetierspermatozoen aus dem Hoden in Relation zu ih-

rer anaeroben Glycolyse ebenfalls eine verhältnismäßig intensive Atmung auf. Die beschriebene positive Wirkung der Ammoniumionen bei Spermatozoen also, die ihre Bewegungsenergie normalerweise vorzüglich aus aeroben Prozessen beziehen verglichen mit ihrer deutlich negativen Wirkung bei solchen Spermatozoenformen, die die hauptsächlich glykolytische Stoffwechselmechanismen für ihre Bewegung ausnutzen, wie z.B. die Nebenhoden- und Ejakulatspermatozoen verschiedener Säugetiere (A n d e r s o n 1945) scheint durchaus nicht zufällig zu sein. Der Eingriff der Ammoniumionen in das Stoffwechselgefüge ist offenbar gerade wegen der bei den genannten Spermatozoenformen vorherrschenden Verlagerung des bewegungsenergieliefernden Stoffwechsels in dieser charakteristischen Weise wirksam. Darüberhinaus scheint sich hier eine Spur zu zeigen, deren Verfolgung wesentliche Erkenntnisse auf dem Gebiet des Bewegungsstoffwechsels zu liefern verspricht.

b. Der Verdünnungsreiz.

Neben den Fragen, die Zusammensetzung, Mengen und physiko-chemische Zustände der Verdünnungsmittel in Spermatozoensuspensionen aufwerfen, tritt im allgemeinen die Frage nach einer Wirkung der "Verdünnung an sich" in den Hintergrund. Der Maßnahme, zur Auslösung der Bewegung die Zahl der Spermatozoen pro Volumeneinheit der Suspension zu verringern, bedient sich die Natur bei den Säugetieren jedesmal dann, wenn Spermatozoen auf ihrem physiologischen Weg aus dem Nebenhodenmilieu in das Ejakulat gelangen. Das heißt nichts anderes, als daß zum Zeitpunkt der Bewegungsauslösung die Menge der auf ein Spermatozoon entfallenden medialen Flüssigkeit (im Normalfall Nebenhodensekret) durch Zufuhr der Sekrete der akzessorischen Geschlechtsdrüsen im Ejakulat auf ein Vielfaches erhöht wird. Besonders eindrucksvoll ist diese Verschiebung der Spermatozoon/Medium-Relation beim Eber. (vergl. A n d e r s o n 1945).

In unseren Untersuchungen zeigte sich, daß die Bewegung von Meerschweinchenhodenspermatozoen kurze Zeit nach dem Beginn der Einwirkung eines beliebigen isotonen Verdünnungsmittels ein Maximum erreicht, dessen Höhe in gewissen Grenzen dem Grade der isotonen Verdünnung proportional ist. Das heißt also, daß bei hohen Verdünnungen relativ höchste Motilität erreicht wird, die aber in Abhängigkeit von den übrigen Bedingungen der Suspension und nicht zuletzt vom Grade dieser Verdünnung bald abfällt und bei extrem hohen Verdünnungen zur

irreversiblen Verdünnungslähmung führt (vgl. G r a n z o w 1932, B o e m i n g h a u s und B a l d u s 1934).

Diese Wirkung der Verschiebung des Volumens des die Spermatozoen umgebenden Mediums zu ihrer Anzahl wird auf die Tatsache der "Verdünnung an sich" und auf die damit verbundene Reizwirkung der isotonen Verdünnung unabhängig von der Zusammensetzung des Verdünnungsmittels zurückgeführt.

Man kann sich die Entstehung eines solchen Reizeffektes allgemein zunächst so vorstellen, daß durch die Verringerung der Zahl der Spermatozoen in der Volumeneinheit der Suspension sowohl mechanisch als auch stoffwechselmäßig eine Entlastung für die Spermatozoen eintritt. R e d e n z (1924) schreibt z.B., daß erst die Verdünnung den vollen Gaswechsel ermögliche, dessen die Spermatozoen bei ihrer Bewegung bedürfen. Ferner kann durch jede, gleichwie geartete Änderung der Spermatozoon/Medium-Relation das Spermatozoon in der Weise beeinflußt werden, daß ein Konzentrationsgefälle von Spermatozoon zum Medium und umgekehrt geschaffen bzw. vergrößert wird. Sowohl die Reizwirkung hinsichtlich der initialen Steigerung bzw. Übersteigerung der Intensität der Bewegung, als auch die Verdünnungsschwelle hinsichtlich der Dauer können dazu zu einem Teil durch verdünnungsbedingte Veränderungen an der Spermatozoenhülle erklärt werden, die ja allen äußeren Einflüssen gegenüber Widerstand leisten soll und darum zunächst überwunden werden muß. Dabei ist es im Prinzip gleich, ob diese Hülle als Kapsel das Spermatozoon überzieht und färberisch wie bei Chimära und Octopus vulgaris nachweisbar ist, (R e d e n z 1928, B e l o n o s c h k i n 1939) oder ob sie in der schutzkolloidalen Wirkung von Kolloiden im Medium besteht. Theoretisch ist das Vorhandensein einer solchen Membran, die aus den gleichen organischen auch die übrigen Zellteile erfüllenden Baustoffen bestehen könnte, im Sinne einer Haptogenmembran oder auch als Gelbildung aufgrund einer Synärese durchaus denkbar. Auf diese Weise wäre jedenfalls die Schwierigkeit eines Nachweises bei Säugetierspermatozoen erklärt. Schutzkolloidale Wirkung im Medium und Haptogenmembran (oder Gelschicht) ergeben additiv - eine Staffelung des Spermatozoenschutzes. Durch diese Vorstellung rücken einige bisher unerklärliche Phänomene wie die Schüttellähmung und paradoxe Bewegungserscheinungen nur eines Teils der Spermatozoen in derselben Suspension in den Bereich einer besseren Deutbarkeit. Über diese allgemeinen Vorstellungen hinaus ist aber die

Tatsache einer Reizwirkung der Verdünnung an sich, aber auch zur Klärung spezieller Fragen in der Theorie der Spermatozoenbewegung von großer Wichtigkeit.

c. Der Einfluß der aktuellen Reaktion auf die Spermatozoenbewegung.

Bekanntlich ist ganz allgemein gesehen die Wasserstoffionenkonzentration von hervorragendem Einfluß auf die statischen Zustände und das dynamische Geschehen in der Zelle. Die Fermentsysteme sind nur bei bestimmten P_H-Verhältnissen optimal wirksam und die Reaktion der Lösungen ist für den Zustand der Kolloide, der Zellmembranen und somit der Permeabilität und in diesem Zusammenhang auch für die spezifische Wirkung der Ionen der Elektrolyte und den Molekülen der Nichtelektrolyte von großer Bedeutung. Diese Gesetzmäßigkeiten lassen sich an den Spermatozoen verschiedener Entwicklungsstufen und beliebiger Spezies nicht nur durch Beeinflussung der Charakteristika wie Bewegung und Fertilisationspotential (M e t t e n l e i t e r 1925, G e l l h o r n 1922a) in vitro als fundamental wichtig erkennen. Eine kurze Synopse der natürlich-physiologischen Verhältnisse führt zwangsläufig zur Würdigung ihrer Bedeutung für die Generationszellen hinsichtlich ihrer Entwicklung, ihrer funktionellen Aktivität und schließlich auch der Erhaltung der Funktionstüchtigkeit bis zum Augenblick des Bedarfs. So wird z.B. die Alkalität in den Spermatozoenmedien der Genitaltrakte von Säugetieren durchweg zwischen einer Stufe von kurz unterhalb des Neutralpunktes im Nebenhoden und einem P_H-Wert von 8, und mehr in den Sekreten des Uterus und der Tuben (vgl. z.B. H i r o k a w a 1909, R e d e n z 1924, B e l o n o s c h k i n 1934/39) variiert.

Die optimale aktuelle Reaktion der Suspensionen von Hoden-, Nebenhoden- und Ejakulatspermatozoen von Säugetieren rangiert nach den in der Literatur wiedergegebenen Erfahrungen zahlreicher Autoren bei einer quantitativ und qualitativ starken Bewegung und einer langen Bewegungsdauer in dem Bereich von P_H 6,0 - 8,0 je nach der Zusammensetzung des Spermatozoenmediums. Nach R e d e n z (1924) soll die Alkaleszenz eine der Grundbedingungen für die Auslösung der Spermatozoenbewegung sein.

Allgemein läßt sich nach B e l o n o s c h k i n (1934) die Wirkung verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen dahingehend definieren, daß die Alkalität die Bewegung begünstigt bzw. auslöst und dementsprechend die "Lebensdauer" abkürzt (nach R e d e n z 1928 wirkt

P_H 8 und höhere P_H-Werte verkürzend), während nicht zu hohe Grade der Azidität die Bewegung hemmen bzw. verlangsamen und das "Leben" länger erhalten. R e d e n z (1928) fand bei P_H 5 die Bewegungsdauer von Nebenhoden- und Ejakulatspermatozoen von Säugetieren bereits ebenfalls verringert. Nach unseren Erfahrungen mit Säugetierspermatozoen hängt die Verringerung der Bewegungsdauer besonders dann, wenn sie schon frühzeitig in P_H-Bereichen um den Neutralpunkt beobachtet wird, in hohem Maße auch von den übrigen, in der Suspension vorhandenen Ionen ab. Es zeigte sich in unseren Untersuchungen deutlich, daß die spezifisch bewegungsfördernde oder - hemmende Wirkung des einzelnen Kat- oder Anions in bestimmten P_H-Bereichen besonders charakteristisch war. Bereits K o e l l i k e r (1856) und V i r c h o w teilten mit, daß die verschiedenen Alkali- und Erdalkalihydroxyde in ihrer Wirkung nicht gleich seien.

Nach G e l l h o r n liegt die optimale Wirkung der Karbonationen zwischen P_H 7,5 und P_H 10,5. Wir fanden, daß das Optimum der bewegungsfördernden Wirkung von Na-Azetationen auf Meerschweinchenhodenspermatozoen im schwach alkalischen Bereich bei P_H 7,3 liegt, während Ammoniumchloridionen bereits bei P_H 6,0 eine ausgezeichnete Wirkung aufweisen (vgl. Abb. 21).

Sehr charakteristisch ist die Darstellung des Einflusses einer Änderung der aktuellen Reaktion auf die Bewegung von Meerschweinchenspermatozoen in Hodensuspensionen, die mit isotonischer NH_4Cl-Lösung hergestellt wurden (s. Abb. 22). Es handelt sich um Durchschnittswerte aus Versuchen an Hodenteilen von 18 verschiedenen Tieren.

Diese Verhaltungsweisen der Spermatozoen bezüglich der Wasserstoffionenkonzentration ihres Mediums zeigen ebenso wie die Agglutinationsreaktionen große Ähnlichkeit mit denen der Erythrozyten (vgl. die Untersuchungen H a f f n e r s, 1922) und von kollodialen Lösungen allgemein (hierzu H o e b e r, 1947).

Morphologische Veränderungen an Meerschweinchenhodenspermatozoen, wie sie sich in unseren Untersuchungen zeigten, wurden in Abb. 23 dargestellt. Eine Schwellung der Spermatozoen unter Hydroxydeinfluß, wie sie von J o e l und P o l l a k (1939) angeführt wird, war in unseren Untersuchungen nicht nachweisbar.

Die Wirkungen der Wasserstoffionenkonzentration auf die Spermatozoen sind bis zu einem gewissen Grade reversibel (B e l o n o s c h k i n 1939).

Abb. 21: Die Wirkung der Änderung der aktuellen Reaktion in der Nähe des Neutralpunktes auf die Quantität und Qualität der Initialbewegung von Meerschweinchenhodenspermatozoen. 3,5 ccm isoton. Lösung auf 1/2 Hoden, Aufbewahrungstemperatur 21° C, Untersuchungstemperatur 23-25° C. Vergleich der Wirkungen der P_H-Änderung in verschiedenen Salzlösungen.

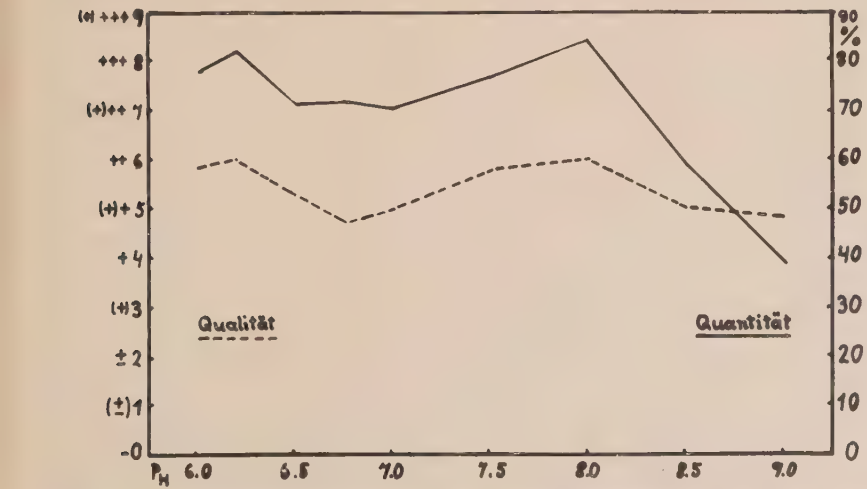


Abb. 22: Einfluß der Änderung der aktuellen Reaktion auf die Initialbewegung in ausschließlich mit isoton. NH_4Cl-Lösung Meerschweinchenhodensuspensionen. 3,5 ccm Lösung auf 1/2 Hoden, Untersuchungstemperatur 25° C, Temperatur der Suspension 20° C.

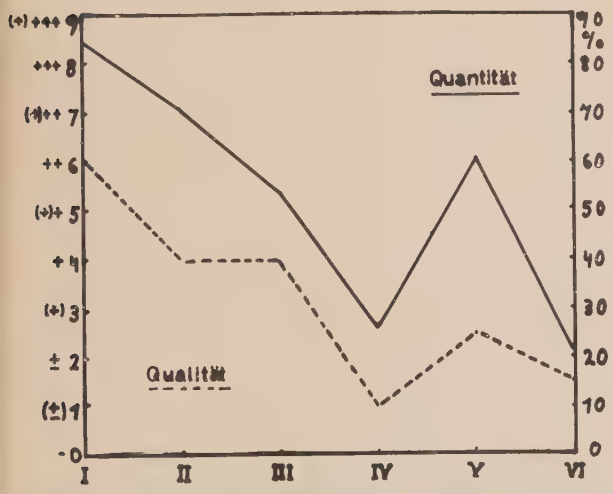
Lfd. Nr.	Gelöster Stoff d. Suspensionslsg.	Konzentration d. Suspensionslsg.	Aktuelle Reaktion d. Suspension	Deformationsbild	Initialbewegung in der Suspension	Bemerkung
1	NH_4Cl + 0,1n HCl	~ 0,81 %	P_H 4,0		0 %	Etwa 60-80% d. freien Sperm. zeigen die angeg. Deform. Einige weisen körnige Auflösungserscheing. am Zwischenstück auf
2	NH_4Cl + 0,1n HCl	~ 0,81 %	P_H 5,0		0 %	Die gebogenen ⌒ sind nur vereinzelt vorhanden
3	NH_4Cl	0,81 %	P_H 6,0		68 % +(+)	Sperm. mit Endösen bis 10%, die gebogenen bis 40% i.d. Hodensuspens.
4	NH_4Cl + NH_4OH	~ 0,81 %	P_H 7,0		70 % +(+)	Gebogene Sperm. bis 50% i.d. Suspension
5	NH_4Cl + NH_4OH	~ 0,81 %	P_H 7,5		82 % + +(+)	~60% der freien Sperm. gebogen
6	NH_4Cl + NH_4OH	~ 0,81 %	P_H 8,0		78 % + +	Die Biegung der freien Sperm. nimmt zu
7	NH_4Cl + NH_4OH	~ 0,81 %	P_H 9,0		51 % +(+)	Die Zahl der derartig gebogenen Sperm. steigt auf 60% d. Gesamtzahl i.d. Suspension
8	NH_4Cl + NH_4OH	~0,81 %	P_H 10,0		28 % +(+)	Die Zahl der freien Sperm. m. Endösen steigt auf etw. 20%, die der gebogenen freien nimmt zugunsten der unbewegl., gerade gestreckten (insbes. nach mehr als 4 Std. Einw.) ab

Abb. 23: Morphologische Veränderungen an Meerschweinchenhodenspermatozoen unter dem Einfluß der Änderung der aktuellen Reaktion in der Suspension; Untersuchungstemperatur 23° C, Temperatur der Suspension 18° C, Standardpraeparation.

i) Die Pufferung in Spermatozoensuspensionen.

Der Körper bedient sich zur Aufrechterhaltung der Reaktionen seiner Organe der puffernden Eigenschaften der Gewebsflüssigkeiten bzw. des Blutes, sowie der regulierenden Tätigkeit seiner Ausscheidungsorgane. Da letztere für die Spermatozoen in der natürlichen Umgebung nicht unmittelbar zur Verfügung steht und sie in vitro völlig fehlt, ist hier eine ausreichende Pufferung von erhöhter Bedeutung (vergl. B e l o n o s c h k i n 1939). Das ist ganz im Sinne der Spermatozoon/Medium-Einheit auch tatsächlich der Fall, wie aus der Tatsache hervorgeht, daß der P_H-Wert von Ejakulat auch nach stundenlanger Inkubation bei Körpertemperatur selbst unter der Belastung des hohen Bewegungsstoffwechsels sich nur wenig ändert. Auch Hodensuspensionen haben trotz der Mullfilterung offenbar größtenteils aus dem Hodengewebe so viel puffernde Substanzen aufgenommen, daß beträchtliche Volumina isotonische Säuren bzw. Basen notwendig sind, ihren P_H-Wert, der durchweg zwischen 6,0 und 6,7 liegt, merkbar zu variieren. Der

Gesamtorganismus bedient sich in der Hauptsache zweier anorganischer Puffersysteme zur Aufrechterhaltung seiner Reaktion. Diese, der Phosphatpuffer Na_2HPO_4/NaH_2PO_4 und der Carbonatpuffer CO_2/HCO_3, sind auch in den natürlichen Medien der Spermatozoen vorhanden. In künstlichen Spermatozoensuspensionen hat sich vor allem der Phosphatpuffer bewährt (vergl. Redenz 1924, Gray, cit. b. Boeminghaus u. Baldus, 1934; Mettenleiter 1925, Anderson 1945 u.a.). Unsere Untersuchungen anderer Puffer an Hodenspermatozoen der Meerschweinchen ergaben, daß ihre Pufferkapazität bezüglich der Förderung und Erhaltung einer optimalen Bewegung durchweg von der spezifischen Wirkung der Ionen überlagert wurde. Es ergab sich einwandfrei, daß für die Bewegung von Hodenspermatozoen nicht nur die Kapazität eines Puffersystems, sondern zugleich auch die spezifische Wirkung seiner Ionen maßgebend sind. (vergl. hierzu Abb. 24).



Pufferlösungen zu Abb. 24.

I. Ammoniakp. p_H 8.0
II. Veronalp. n. Michaelis p_H 8.0
III. Phosphatp. n. Sörensen p_H 8.0
IV. Borsäurep. n. Clark p_H 8.0
V. Citratp. n. Sörensen p_H 6.4
VI. Azetatp. p_H 6.4

Abb. 24: Vergleichende Darstellung der Wirkung von durch verschiedene Puffersysteme eingestellten Reaktionen auf Quantität und Qualität der Initialmotilität der Spermatozoen in Meerschweinchenhodensuspensionen. Zu beachten ist die Überlagerung der Wirkung der Reaktion durch die spezifische Ionenwirkung. Untersuchungstemperatur 25° C.

Weiter wird die im Sperma in vermehrtem Maße vorkommende Zitronensäure in Verbindung mit den Kationen starker Basen puffernde Eigenschaften entwickeln und somit die Reaktion des Spermas beeinflussen.

Von der größten Bedeutung sowohl im Blut, in den Organen des tierischen Körpers und auch in den natürlichen und künstlichen Spermatozoensuspensionen ist ein viertes Puffersystem, das von den Eiweißkörpern gebildet wird. Die Grundlage ihrer puffernden Wirkung ist ihre Ampholytnatur. Lange Zeit wurde die günstige Wirkung der Eiweißkörper auf die Erhaltung der Bewegung bei Spermatozoen ausschließlich dieser Eigenschaft zugeschrieben. Die Untersuchungen von T y l e r und R o t h s c h i l d (1951) an Seeigelspermatozoen sowie die eigenen Untersuchungen an Hodenspermatozoen zeigen, daß kleine molekulare bzw. ionale Dissoziations- bzw. Abbauprodukte der großen Eiweißmoleküle, wie z.B. die Aminosäuren bzw. die Ammoniumionen, eine spezifische Wirkung auf die Bewegung dieser Spermatozoenformen enthalten und daß damit die Einflüsse der Pufferungseigenschaft der Eiweiße insoweit überschätzt wurden.

III) Über die Bedeutung von anorganischen Ionen für das chemisch-physikalische Geschehen in der Zelle mit Bezug auf die Spermatozoenbewegung.

1. Die spezifische Ionenwirkung.

Benutzt man zur Herstellung von Spermatozoenaufschwemmungen isotone Lösungen verschiedener Salze z.B. der Salzsäure (Gleichbleiben des Anions, Wechsel des Kations) bzw. die Natriumsalze verschiedener Säuren (Gleichbleiben des Kations und Wechsel des Anions), so findet man eine jeweils für die Ionen der Suspensionslösung charakteristische Beeinflussung der Spermatozoenbewegung. Diese Differenzen in der Beeinflussung der Bewegung zwischen den verschiedenen Lösungen können von der totalen Bewegungsblockade bis zur maximalen, in körpereigenen Sekreten beobachteten Bewegung alle Stufen umfassen und durch geeignete Maßnahmen sogar noch darüberhinaus gesteigert werden. Hierbei wird neben der Intensität der Initialbewegung auch die Bewegungsdauer weitgehend variiert. Eine möglichst umfassende Standardisierung der übrigen chemo-physikalischen Suspensionsbedingungen und die strenge Beobachtung stets gleichbleibender praeparatorischer Kautelen ermög-

lichen es, die Unterschiede im Verhalten der Spermatozoen in verschiedenen Lösungen auf die Wirkung jeweils eines einzelnen Kat- bzw. Anions zurückzuführen. Auf diese Weise lassen sich je nach der Beeinflussung der Spermatozoenaktivität Ionenreihen aufstellen, wie es neben G e l l h o r n (1922a,b) zahlreiche andere Autoren getan haben. G e l l h o r n erhielt für die Initialbewegung bei den Spermatozoen von Rana temporaria die Kationenreihe:

$Li^+ \leq Cs^+ < Na^+ \ll NH_4^+ < K^+ \geqq Rb^+$; $\longrightarrow$ (ansteigende Giftwirkung)

und die Anionenreihe:

Tartrat $\leq SO_4^{--} \geqq PO_4^{---} \leq CH_3COO^- \ll NO_3^-, Br^- < Cl^- \ll J^- \leq$ Citrat $\ll F^-, SCN^-$;

Bei Meerschweinchennebenhodenspermatozoen erhielt er, offenbar die Initialbewegung als Testkriterium wertend, die Kationenreihe:

$K^+ \leq Rb^+ < Na^+ < NH_4^+ < Cs^+ \leq Li^+$;

und die Anionenreihe:

Tartrat $\leq CH_3COO^- \geqq PO_4^{---} \leq SO_4^{--} < Br^- \geqq NO_3^- < Cl^- < J^- <$ Citrat $< F^-, SCN^-$;

Aus unseren eigenen Untersuchungen ergaben sich bei gleichbleibender Präpariertechnik, Untersuchungstemperaturen zwischen 23 - 26° C und P_H-Werten von 6,0 - 6,3 für die Kationenreihe bzw. 6,8 - 7,5 für die Anionenreihe:

$NH_4^+ \ll K^+ < Na^+ < Cs^+ \leq Rb^+ \ll Li^+$;

$CH_3COO^- \ll NO_3^- < Cl^- \leq Br^- <$ Tartrat $< SO_4^{--} < J^- <$ Citrat $< PO_4^{---} \ll F^-, SCN^-$;

Darüberhinaus sind in den Abbildungen 25 und 26 die Wirkungen von einfachen, isotonischen Salzlösungen auf die Initialmotilität der Hodenspermatozoen des Meerschweinchens dargestellt. Nach H o e b e r (1947) wirken die einwertigen Kationen dispersitätssteigernd, die zweiwertigen dispersitätsvermindernd. Auffällig ist nun der Unterschied in der Wirkung auf die Spermatozoenbewegung. Nach J o e l soll das Mg^{--} bei Ejakulatspermatozoen besonders bewegungssteigernd wirken. Bei dem Vergleich der Einflüsse der An- und Kationen auf die Bewegung von Hodenspermatozoen des Meerschweinchens tritt ebenfalls das NH_4^+ weit in den Vordergrund. Die Änderungen in den Reihenfolgen

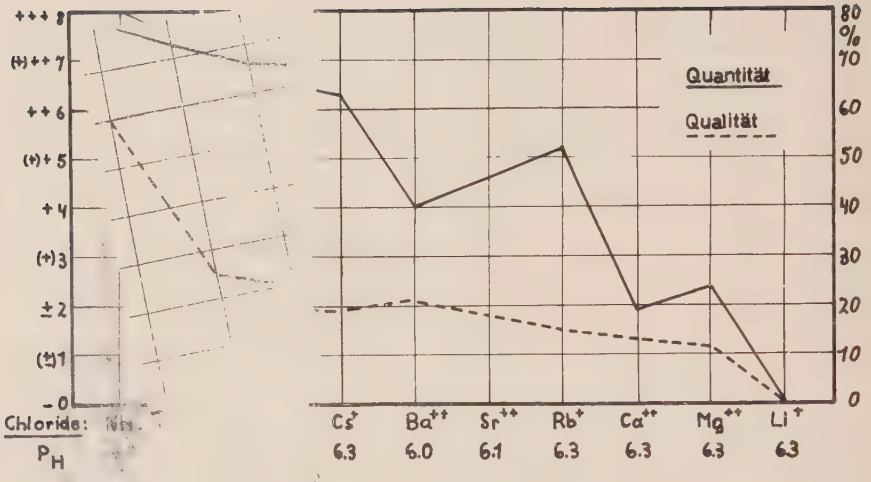


Abb. [illegible] Ionen auf die Initialmotilität von Meerschweinchenh[illegible]zoen. Untersuchungstemperatur 23 - 26° C, 3 ccm restlös[illegible] Hoden.

[illegible] Ionen, die [illegible] Vergleich der verschiedenen Reihen untereinander deutlich [illegible] sind leider nicht allein auf die Besonderheiten in der Reak[illegible]se der betreffenden Spermatozoenform zurückzuführen; denn die [illegible]schiedungen können auch durch die Unterschiede in den Praeparaten in [illegible]iken der verschiedenen Autoren sowie in Variationen der Unt[illegible]sbedingungen begründet sein, ohne daß die Beeinflussung der in den P[illegible]llen Eigentümlichkeiten der Spermatozoen aufgrund der spezifischen [illegible]onenwirkung nachträglich davon isoliert werden kann.

Solche Schwierigkeit[illegible]s auch, die es vorläufig noch vereiteln, die Untersuchungen ve[illegible]ner Autoren vergleichend zu diskutieren. Eine Übersicht über d[illegible]fischen Ionenwirkungen auf die kontraktilen Mechanismen von [illegible] Flimmerepithel, Geißelzellen und Spermatozoen wäre gewiß in [illegible] Hinsicht und besonders für die Vorstellungen über die Grundvo[illegible]n Mecha[illegible]der Kontraktilität sehr aufschlußreich.

2. Ionenantagonismus und [illegible]gismus.

Die gegenseitige Beeinflu[illegible]der Ionen in ihrer Wirkung auf die funktionellen Abläufe insb[illegible]re im und am Hodenspermatozoon des

Meerschweinchens scheint nicht so ausgeprägt zu sein wie z.B. die "klassischen" Wirkungen von NaCl, KCl und $CaCl_2$ in verschiedenen Konzentrationsverhältnissen am Kaltblüterherzen. Jedoch werden Bewegungsänderungen in Spermatozoensuspensionen hinsichtlich Qualität, Quantität und Dauer unter dem Einfluß verschiedenartiger Ionenkombinationen bei Erhaltung der Isotonie des Gesamtdruckes sehr deutlich erkennbar.

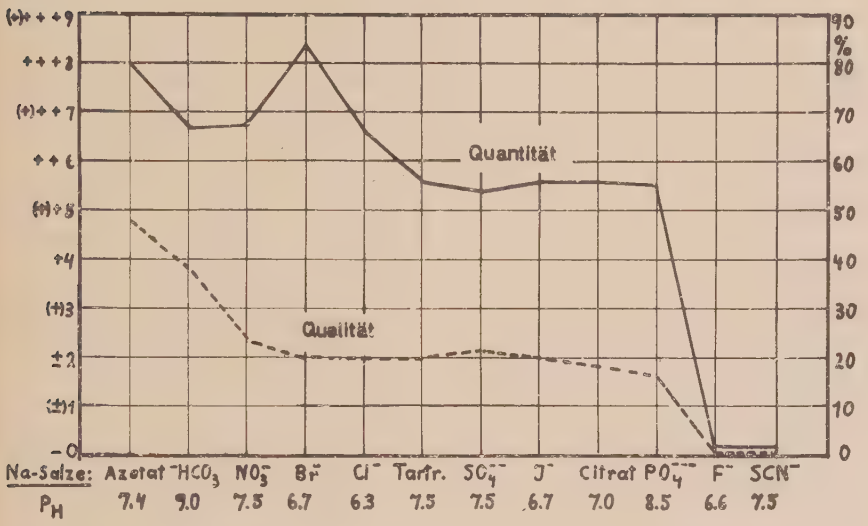


Abb. 26: Einfluß von Anionen auf die Initialmotilität von Meerschweinchenhodenspermatozoen. Untersuchungstemperatur 23 - 26° C, 3 ccm Testlösung auf 1/2 Hoden.

Das heißt also, daß die spezifische Wirkung der einzelnen Ionen auf die Intensität der Initialbewegung, auf die Zahl der beweglichen Spermatozoen in der Suspension und auf die Bewegungsdauer durch Zusatz von anderen Ionen modifiziert werden kann (vgl. Gellhorn, 1920/22a,b, 27; Mettenleiter, 1925; Schlenk u. Kahmann, 1937; Joel u. Pollak, 1939).

Die männlichen und weiblichen Genitalsekrete sind für die verschiedenen Entwicklungs- und Funktionszustände der Spermatozoen gemäß den

Auffassungen von L i l l i e (1902), H o e b e r (1914/26), L o e b (1916), S t e u d e l (1926) u.a. in der Zusammensetzung ihrer Elektrolyte sehr wahrscheinlich weitgehend äquilibriert. Bei der großen Bedeutung dieser Elektrolytverhältnisse für die Bewegung und offenbar auch für die Befruchtungsfähigkeit der Spermatozoen (G e l l h o r n, 1922c/27) ist es notwendig, daß als Grundlage einer jeden künstlichen Lösung zur Suspension von Samenzellen das Ionengefüge genau ausbalanciert sein muß.

Die Beeinflussung verschieden gerichteter ionaler Wirkungen untereinander ist für den geordneten Ablauf aller Lebensvorgänge von entscheidender Wichtigkeit (L e h n a r t z, 1952). Im Falle der Spermatozoensuspension läßt sich in vitro das Ionengefüge auf besondere Verhältnisse einstellen. So kann man es je nach Erfordernis z.B. für die Erhöhung der Befruchtungskapazität oder für eine Verbesserung der Bewegungsqualität in natürlich nicht allzuweiten Grenzen optimal wirksam machen. Zahlreichen Beobachtungen zufolge kommt dem Kationenantagonismus eine größere Bedeutung zu als dem der Anionen. Nach H ö b e r u. S c h ü r m e y e r (1926) scheint hierbei die Tatsache eine Rolle zu spielen, daß das antagonistische Wirkungsmaximum für Kationen vom isoelektrischen Punkt der Eiweißkörper aus nach der alkalischen, das für die Anionen aber nach der sauren Seite zu liegt.

Man kann also schon durch geeignete Modifizierung des in einer Spermatozoensuspension vorliegenden Ionenmilieus den funktionellen Zustand der Spermatozoen gezielt beeinflussen. Diese Zusammenhänge sind daher insbesondere bei Inseminationen mit funktionell unterwertigem Sperma zu berücksichtigen. Die Insemination mit einer Spermatozoensuspension, die nur mit der sogenannten "physiologischen NaCl-Lösung" hergestellt wurde, ist abzulehnen.

3. Die komplexen physikochemischen Ioneneigenschaften als Voraussetzung für die Wirkungen der Ionen auf die Spermatozoenbewegung.

Für eine Vorstellung von der Wirkung von Säuren, Basen und Salzen auf das Zellgeschehen hat man zunächst die als primär aufzufassende Wechselwirkung zwischen diesen Stoffen und dem extra- und intrazellulären Wasser zu berücksichtigen.

Es gibt so z.B. keine isolierte Na^+ oder Cl^- Ionen in Lösung. Elektrolyte reagieren stets nur in Verbindung mit jenen Veränderungen, die

sie einerseits beim Übergang in den gelösten Zustand an ihrem Dispersionsmittel verursachen, die andererseits das Wasser an diesen Substanzen hervorruft. Hierher gehören zunächst die Auflösung des Ionengitters unter Bildung einzelner hydratisierter Ionen, sodann Reaktionen einzelner Ionenarten mit dem Wasser als Säure- Basenreaktionen, die als Hydrolyse bzw. Pufferung durch die Entstehung einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration das Zellgeschehen tiefgreifend beeinflussen (s.S. 74). Das sich zwischen diesen Erscheinungen einspielende Gleichgewicht ist sehr wesentlich von den relativen und absoluten Konzentrationen wie auch von der Temperatur abhängig. Dazu werden durch die Dissoziation die osmotischen Druckverhältnisse weitgehend bestimmt.

Das außerhalb und innerhalb der Zelle befindliche Wasser ist größtenteils als Hydratations- und Quellungswasser an kolloidale Körperbausteine wie Eiweißkörper, Glycogen, Lecithin und Thymonukleinsäuren gebunden. Trotzdem steht dieses gebundene Wasser bis auf einen geringen Rest als Elektrolytvehikel bzw. als Lösungsmittel kristalloider Stoffe zur Verfügung. Schwankungen in der Konzentration dieser ionen- bzw. niedermolekulardispers gelösten Stoffe verursachen aber u.U. erhebliche Veränderungen in der Wasserbindung der Kolloide. Die anorganischen Ionen konkurrieren gleichsam mit den Kolloiden um das Wasser, indem sie sich mit einer Schale von H_2O - Dipolen umgeben. Diese Dipole verhindern zugleich auch die Verbindung der echtgelösten Ionen mit den kolloidalen Ionen und Molekülen. Hiermit in unmittelbarem Zusammenhang steht der "Aussalzeffekt" bei höheren Salzkonzentrationen, der besonders groß ist, wenn die Wasseraffinität sowohl der Kationen als auch der Anionen hoch ist. Eine weitere wichtige Wechselbeziehung zwischen Ionen und Wasser stellt der "Ionenpaareffekt" dar. Es handelt sich dabei um eine vereinigte Wirkung von Anionen und Kationen, die "Aquo - Azide bzw. Aquo - Basen" bilden (H o e b e r, 1947). Diese Erscheinungen bestimmen natürlich entscheidend den elektrischen Zustand des Dispersionsmittels, von dem ja bekanntlich die Stabilität der kolloidalen Lösung abhängt. Der Zustand der kolloidalen Lösungen des Zellplasmas ist nun andererseits wieder von wesentlichem Einfluß auf die Protoplasmastrukturen, die als morphologische Grundlage für das Nebeneinander der verschiedenen funktionellen Leistungen der Zelle angesehen werden müssen (vgl. L e h n a r t z, 1952).

H o f m e i s t e r hat zuerst den Ioneneinfluß auf die Quellung von

Gelatinegallerten untersucht und für die im Vergleich zu den Anionen schwächere Kationenwirkung bei gleichbleibender Ionenkonzentration folgende lyotrope Reihe aufgestellt:

$$Li < Na < K, NH_4;$$

Für die Anionen fand er die Reihe:

$$Cl < Br; NO_3 < J < CSN;$$

Sulfat, Tartrat und Citrat entziehen der Gelatine Wasser, Azetat ist ohne Wirkung.

Bei nicht neutraler Reaktion erfolgen Änderungen in der Reihenfolge der Ionen bis zur völligen Umkehrung der Reihe. Solche Variationen werden als Übergangsreihen bezeichnet (L e h n a r t z, 1952).

Nach H o e b e r (1914) sind die an Zellen mit kontraktilen Mechanismen aufgrund der Bewegungsbeeinflussung aufgestellten Ionenreihen weitgehend mit diesen Übergangsreihen identisch. Der Autor kommt zu dem Schluß, daß sie der Ausdruck einer Einwirkung der Salze auf die Zellkolloide sind. Ähnliche Übereinstimmungen finden sich zwischen den genannten Ionenreihen und verschiedenen, aus der Fällbarkeit von Eiweiß gewonnenen Reihen (G e l l h o r n, 1922a/27) den Hämolysereihen (H a f f n e r, 1922), sowie den Reihen, die aus der Prüfung der Muskelerregbarkeit gewonnen wurden (H o e b e r, 1947).

Die verschiedenen spezifischen Wirkungen der anorganischen Ionen auf das Protoplasma der Zelle sind natürlich zum überwiegenden Teil in den besonderen Eigenschaften des Elementes und in seinem Ionenzustand begründet. Die unterschiedlichen Diffusionsgeschwindigkeiten bzw. Beweglichkeiten der Ionen bei der gleichen Temperatur (K o h l r a u s c h, 1902) die mit Hydratation bzw. Solvatation dem Atomvolumen und der Assoziationstendenz verknüpft sind, sind mathematisch kaum zu fassen. Das ist auch die Ursache dafür, daß konzentriertere Lösungen den aus den osmotischen Gesetzen abgeleiteten Gleichungen genau so wenig folgen, wie die Zustandsänderungen der gewöhnlichen Gase den idealen Gasgleichungen. Daraus ergibt sich, daß die Berechnungen zur Herstellung isotoner Lösungen niemals exakt sein können. Die einzige zuverlässige Methode, isoosmotische Lösungen verschiedener Elektrolyte und insbesondere von Elektrolytkombinationen herzustellen, liefert das Osmometer.

Das Vorkommen der zahlreichen Stoffe in verschiedenen Phasen und Konzentrationen mit dem Wasser als einzigem Dispersionsmittel schafft die Voraussetzungen für eine Fülle von Ober- bzw. Grenzflächen- und Membranreaktionen. Derartige Phasengrenzreaktionen und die Ionenwirkungen beeinflussen sich gegenseitig in vielfältiger Weise. Die Ionen vermögen bestimmte Reaktionen an den Membranen zu hemmen bzw. zu verstärken, und die Membranen selbst können aufgrund ihrer Adsorptionsfähigkeiten und ihrer spezifischen Durchlässigkeit die Wirkungen von einzelnen Ionen fördern oder unterdrücken (vgl. "Die Membrantheorie der Biopotentiale" B e r n s t e i n, 1902/12 und H o e b e r, 1947). Die Adsorption von Elektrolyten an den biologischen Grenzflächen tritt sowohl als Aequivalentadsorption (Adsorpt. aequivalenter Mengen Kat- u. Anionen) als auch als Austauschadsorption (Adsorpt. unter Austausch gegen gleichnamige Ionen) auf. Im Vergleich zu den organischen Ionen sind die anorganischen weniger oberflächenaktiv. Sie werden nach ihrer Adsorbierbarkeit z.B. an Kohleoberflächen ebenfalls in Reihen angeordnet, die den Quellungsreihen der Gelatinegallerten sehr gut entsprechen: $\xrightarrow[\text{(Anstieg der Adsorbierbarkeit)}]{}$

a. Anionenreihe:

$$SO_4 < HPO_4,\ Cl < Br < NO_3 < J < SCN < OH;$$

b. Kationenreihe:

$$Na,\ K,\ Rb,\ Cs,\ NH_4 < Ca,\ Mg < Zn < Al < Hg,\ Ag,\ H;$$

Durch die verschieden große Adsorption von Kat- und Anionen an den Grenzflächen zweier verschiedener Phasen z.B. nicht oder schwer mischbarer Flüssigkeiten bildet sich eine elektrische Doppelschicht aus, die man als Sitz des elektrischen Potentials der Zelle, des sogenannten Phasengrenzpotentials oder elektrokinetischen Potentials ansieht. Dieses Phasengrenzpotential erklärt die Erscheinungen der Kataphorese und der Elektroosmose. Die Permeabilität der aus Eiweißkörpern und Lipoiden aufgebauten Zellmembranen paßt sich durch Änderung ihres elektrischen und kolloiden Zustandes den jeweiligen Funktionsphasen der Zelle an und wird von den adsorbierten Ionen gesteuert. Offenbar sind besonders die anorganischen Ionen für die Steuerung der Permeabilität der Zelle von großem Einfluß. Für die aktive und passive Permeation der Ionen selbst und somit für ihre Wirksamkeit direkt im Innern der Zelle ist neben den elektrischen Bedingungen und der Adsorp-

tionsfähigkeit ihre Lipoidlöslichkeit Voraussetzung. Das ergibt sich aus den Befunden der Strukturanalysen von Zellmembranen und ermöglicht die Deutung von sonst unerklärlichen Permeationsphänomenen. Die Steuerung der Membrandurchlässigkeit ermöglicht die Ausbildung der D o n n a n - Gleichgewichte und wird als elektive Permeabilität bezeichnet (H o e b e r, 1947; L e h n a r t z, 1952).

Weitere Eingriffsmöglichkeiten von Ionen in das Zellgeschehen ergeben sich aus der Tatsache, daß die Funktion von Fermenten an die Gegenwart von bestimmten anorganischen Ionen gebunden sein kann, wie z.B. die Amylasefunktion an das Vorhandensein von Cl^- und die Wirksamkeit einiger Phosphatasen an Mg^{++}. Das ist besonders im Zusammenhang mit der die Bewegung von Ejakulatspermatozoen "erregenden" Wirkung einiger Mg-Salze (G e l l h o r n, 1920; J o e l, 1939/53) interessant. Bei den phosphatasearmen Hodenspermatozoen von Meerschweinchen, Ratten und Bullen konnten wir einen besonders günstigen Einfluß des Mg^{++} keinesfalls feststellen. Ejakulatspermatozoen verschiedener Säugetiere besitzen nach M a n n (1949) eine ausgesprochen hohe Phosphataseaktivität, die dieser Autor unmittelbar mit der Bewegung dieser Spermatozoen in Verbindung bringt. Es ist daher wahrscheinlich, daß die Mg-Ionen ihren bewegungsfördernden Einfluß auf Ejakulatspermatozoen von Säugetieren ihrer phosphataseaktivierenden Eigenschaft verdanken.

Abschließend bleibt festzustellen, daß trotz einer Fülle von Beobachtungen uns das Verständnis der Ionenwirkungen in der Mehrzahl der Fälle noch verschlossen ist. Sicher kommt den Ionenwirkungen das allgemeine Zellgeschehen und speziell für die funktionelle Aktivität von Spermatozoen hervorragende Bedeutung zu. Daher muß bei Untersuchungen an lebenden Zellen dieser Tatsache Rechnung getragen werden. Voraussetzung aber dafür ist, daß man bei allen Untersuchungen jene die Zellfunktion und Substanzwirkungen so tiefgreifend beeinflussenden Bedingungen wie Temperatur, Wasserstoffionenkonzentration und Besonderheiten der Praeparation stets berücksichtigt und vollständig angibt.

4. Morphologische Einflüsse anorganischer Ionen auf Säugetierspermatozoen.

Es wurde bereits über die Krümmung von Spermatozoen in isotonischer

NH_4Cl - Lösung und deren Einfluß auf den Bewegungsmodus berichtet. Der Ursache dieser Krümmung scheint man näher zu kommen, wenn man den Einfluß von ammoniumionenhaltigen Lösungen auf die Muskulatur betrachtet. Nach T r e n d e l e n b u r g (1926) wirken NH_4-Ionen auf die Skelettmuskulatur des Frosches und Blutegels tonuserhöhend und lösen bei Hirudo unregelmäßige Kontraktionen aus. Die glatten Muskelfasern des Hühneroesophagus werden in NH_4Cl-haltiger "Nährlösung" verkürzt. Diese Beobachtungen sowie der veränderte äußere Bewegungsmodus der Spermatozoen lassen vermuten, daß durch die Ammoniumchloridlösung der kontraktile Apparat unter erhöhte Dauerspannung gesetzt wird. Hierdurch wird die Krümmung und mit dieser eine neue Ausgangsposition des Spermatozoenschwanzes für die Bewegung bedingt. In Abb. 27 sind die Wirkung einiger Salze auf den morphologischen Zustand von Hodenspermatozoen des Meerschweinchens dargestellt. Aus den Zeilen 2-4 dieser Abbildung geht hervor, daß Ammoniumcarbonat bzw. Bicarbonat in isotonischer Konzentration eine weit stärker deformierende Wirkung auf den

Versuch Lfd. Nr.	Gelöster Stoff d. Suspensionslsg.	Konzentration d. Suspensionslsg.	Aktuelle Reaktiond. Suspension	Deformationsbild	Bewegung in der Suspension	Bemerkung
D_1 / 1	$NH_4Cl + NaOH$	isotonisch	P_H 9		59 % + (+)	Deform. etwa 40-60 % trotzdem über 14 Std. Bewegung nachweisbar
D_8 / 2	NH_4HCO_3 + NH_4OH	isotonisch	P_H 9		4 % (±)	Deformation etwa 70-80 %, Ringformen etwa 20 %
D_{10} / 3	$(NH_4)_2CO_3$	isotonisch	P_H 8,8		0 %	Hoher Prozentsatz deformiert
D_{10} / 4	NH_4HCO_3	isotonisch	P_H 8,4		10 % (±)	60-70 % deformiert
X_{a7} / 5	Ringer (d'Haen Fixan.)	isotonisch	–	a. b.	61 % +++(+)	Nebenhodensperm. Die Krümmung b zeigte sich nach 25 Std.
B_{49} / 6	Na F	isotonisch	P_H 6,9	Keine Deform.	0 %	Hier fällt die uniforme Streckung sämtlicher Spermatozoen auf
B_{41} / 7	Na SCN	isotonisch	P_H 6,7	Keine Deform.	0 %	Ebenfalls uniforme Streckung auffällig

Abb. 27: Wirkung einiger Salze auf den morphologischen Zustand des Schwanzes von Meerschweinchenhodenspermatozoen. Untersuchungstemperatur 23 - 26° C, 3,5 ccm Testlösung auf 1/2 Hoden.

Spermatozoenschwanz ausübt als es die isotonische Ammoniumchloridlösung unter sonst völlig gleichen Bedingungen vermag. Besonders stark schien uns der deformierende Effekt in jenen Versuchen zu sein, die in Abb. 27 Zeile 2 zusammengefaßt dargestellt sind. Diese Befunde legten uns die Vermutung nahe, daß die erhöhte Tonisierung des kontraktilen Apparates nicht durch das Ammoniumchlorid sondern durch Ammoniumcarbonat hervorgerufen wird, das ja in den mit isotonischer NH_4Cl-Lösung hergestellten Suspensionen unter der laufenden CO_2-Produktion durch die Spermatozoen sich stets bilden kann. Freies Ammoniak, das nach H o e b e r (1947) und T r e n d e l e b u r g (1926) die Permeabilität der Zellwände erhöht, scheint nach unseren Beobachtungen die Deformationen zu verstärken.

Über den Mechanismus dieser Tonuserhöhungen sind bisher noch mehrere Vorstellungen möglich. Es ist denkbar, daß das Ammoniumcarbonat möglicherweise sogar undissoziiert durch die Erhöhung ihrer Konzentration im äußeren Medium einen bestimmten fermentlabilen Zustand der Spermatozoen dadurch beeinflussen, daß es selektiv durch verstärkte Fermentaktivierung einzelne Stoffwechselvorgänge intensiviert. Andererseits könnten die nach D o e p f m e r und F r e i h o f f (1955) wirksamen Teilchen der Ammoniumverbindung durch Änderung der ionalen Gleichgewichte in die physikalische Konstellation der Zelle eingreifen. Hierzu braucht nicht ein definierter physiko-chemischer Angriffspunkt vorzuliegen, sondern eine allgemeine Verlagerung des Schwergewichts der Zelldynamik aufgrund ausgedehnter Permeabilitätsänderungen könnte die beschriebene Wirkung hervorrufen.

Die in den Zeilen 6 u. 7 der Abb. 27 dargestellte auffallend gerade und bei fast allen Spermatozoen der Suspension beobachtete Streckung könnte mit der Inhibitorenwirkung von SCN^- und F^- für bestimmte Bereiche des Spermatozoenstoffwechsels zusammenhängen.

5. Über Vorstellungen bezüglich einer direkten Beteiligung anorganischer Ionen an dem chemo-physikalischen Mechanismus der Spermatozoenbewegung.

Nach B e l o n o s c h k i n (1934) wird die Spermatozoenbewegung durch ziemlich starke Verdünnung des Nebenhodensekretes mit elektrolythaltigen Flüssigkeiten erzielt. Nach H o e b e r erfolgt dabei eine Änderung des kolloidalen Zustandes der Plasmahaut der Keimzellen,

die nach R e d e n z vor allem das Mittelstück betrifft. S c h l e n k u. K a h m a n n (1938) stellten bei Forellensperma fest, daß für die Bewegung dieser Spermatozoen ein Konzentrationsunterschied von Kaliumionen zwischen Schwanz und Umgebung Voraussetzung sei. Im Verlaufe der Bewegung wird der Spermatozoenschwanz von Kaliumionen entladen, d.h., das Kaliumgefälle vom Spermatozoon zum Medium hin nimmt ab. Derartige Beobachtungen konnten bisner bei Säugetierspermatozoen noch nicht gemacht werden. Bei der großen Bedeutung, die jedoch anorganische Ionen für die Bewegung von der Säugetierspermatozoen haben, erscheint ein ähnlicher Mechanismus auch bei diesen möglich.

F l e c k e n s t e i n (1955) hat für den Skelettmuskel einen ähnlichen Ionenmechanismus beschrieben. Nach seiner Auffassung ist die ATP-Theorie der Muskelkontraktion mit dem tatsächlichen Verhalten des intakten Muskels bei einer normalen Muskelkontraktion nicht mehr in Einklang zu bringen. Der Autor hält es für möglich, daß die Kontraktionsenergie des Muskels einem Kaliumspeicher entstammt, der dem ähnlich ist, den S c h l e n k und K a h m a n n für die Forellenspermatozoen beschrieben haben.

Wenn ein überschwelliger Reiz die Muskelfaser trifft - bei den Spermatozoen wäre das der Verdünnungsreiz - so löst er nach F l e c k e n s t e i n folgende Reaktionen aus:

Austausch von K^+ und Na^+
↓
Abbau von energiereichem Phosphat
↓
Glycolysesteigerung
↓
Atmungssteigerung

Diese Phänomene seien wahrscheinlich mit denen in den Nervenfasern, in den elektrischen Organen von Fischen, sowie mit denen in den Gehirnzellen grundsätzlich identisch. Der für die Erregung, d.h. also für die "Initialzündung" der funktionellen Aktivität dieser Zellen entscheidende Primärprozeß besteht in der Entladung der osmotischen bzw. elektrischen Energien, die in den hohen Konzentrationsunterschieden zwischen intra- und extrazellulären K- und Na-Ionen gestapelt sind. F l e c k e n s t e i n hat darum das Schema von

F e n n (1947) über die im Muskel wirksamen Energiespeicher bzw. Energieüberträger um die sogenannte "Kaliumbatterie" ergänzt (vgl. Abb. 28). Jeder dieser Speicher soll sich auf Kosten des nächstfolgenden regenerieren: Der K-Ionenspeicher wird mit Hilfe von energiereichem Phosphat aufgeladen, während das Phosphat durch Atmung und Glykolyse wieder aufgebaut wird.

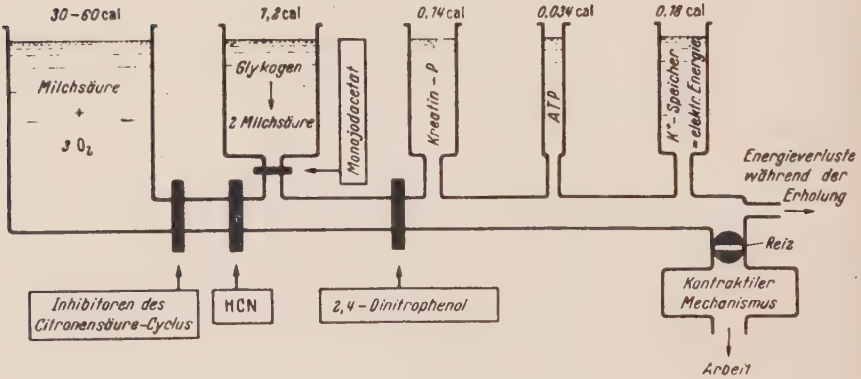


Abb. 28: Schema der Energievorräte des ruhenden Muskels nach F e n n (1947). Es ist von F l e c k e n s t e i n (1955) modifiziert und durch Aufnahme des Kaliumspeichers ergänzt. Die in den verschiedenen Reservoiren gestapelten Energiemengen in Calorien beziehen sich auf 1 g Froschmuskel. Die Werte für den Abbau der Milchsäure und Glykogen entsprechenden Angaben von L o h m a n n. Die Werte für den K^+-Speicher, Kreatinphosphat und ATP ergeben sich aus den Berechnungen F l e c k e n s t e i n s (1955). Blausäure, Monojodessigsäure, 2,4-Dinitrophenol und die Inhibitoren des Zitronensäzrezyklus können die Nachlieferung von energiereichem Phosphat unterbrechen und die Wiederaufladung des K^+-Speichers verhindern.

Die Theorie eines ionalen primären Energiespeichers scheint in der Tat den Anforderungen, die man an den letzten für die Kontraktion entscheidenden energieliefernden Prozeß stellen muß, am besten zu entsprechen. Die innige Wechselbeziehung zwischen Ionenverhalten und den elektri-

schen Erscheinungen der Zelle lassen eine weitere Deutung der unmittelbar zur Kontraktion führenden Vorgänge zu. Es ist wahrscheinlich, daß die elektrische Aufladung der Membranen der Muskelzelle für die Längsorientierung der kontraktilen Elemente verantwortlich zu machen ist. Bei Entladung der Membran im Augenblick der Muskelerregung sollen sie, der natürlichen Tendenz einer stärkeren Faltung der elementaren Eiweißketten folgend (s.S. 17), sich wieder zusammenziehen. Nach dieser Vorstellung F l e c k e n s t e i n s sind die Muskelfasern elektrische Maschinen mit der Eigenschaft, ihre Länge in Abhängigkeit von der elektrischen Ladung der Grenzflächen zu verändern.

Wenn die energieliefernden Prozesse für die funktionelle Aktivität sogar der Nervenfasern, Hirnzellen usw. den am Muskel demonstrierten Vorgängen im Grunde gleichen sollen, um wieviel näher liegt dann die Annahme eines gleichen energieliefernden Prinzips für die durch die Kontraktilität mit dem Muskel verwandten Spermatozoen! Unsere eigenen Untersuchungen können zwar in dem begrenzten Rahmen dieser Arbeit keine wesentliche Stütze für diese Annahme erbringen, es wurde aber durch sie auch kein Argument dagegen gefunden.

V. Z U S A M M E N F A S S U N G

Die Motilität wird von der Mehrzahl der Autoren als eines der wichtigsten Kriterien zur Beurteilung der Befruchtungsfähigkeit der Spermatozoen bezeichnet. Bisher liegen nur sehr wenige tierexperimentelle Ergebnisse vor, nach denen auch unbewegliche, vitale Spermatozoen eine Konzeption herbeiführen sollen. Den vorliegenden Untersuchungen lag das Problem zugrunde, ob bei Verschluß der samenabführenden Wege die in ihrem funktionellen Verhalten noch weitgehend unbekannten aber sicher gegenüber den Ejakulatspermatozoen unterwertigen Hodenspermatozoen zu künstlichen Übertragungen verwendet werden können.

Dieses Problem führt unmittelbar zu der speziellen Fragestellung dieser Arbeit, inwieweit die Bewegungsdauer, die für menschliche Hodenspermatozoen von B e l o n o s c h k i n (1942/48) bisher unwidersprochen mit drei Stunden angegeben wurde, zu verlängern ist und ob die Intensität (Qualität) der Bewegung und die Zahlen der in einer

Hodensuspension sich überhaupt bewegenden Spermatozoen (Quantität) erhöht werden können.

Zur Vorbereitung der experimentellen Untersuchungen wurden anhand der Literatur zunächst die physiko-chemischen Grundlagen der Spermatozoenbewegung erörtert. Das bewegende Prinzip des Spermatozoon, sein kontraktiler Mechanismus, wurde im Vergleich mit dem anderer Zelltypen beschrieben. Das Verhältnis des Spermatozoon zum umgebenden Medium wurde analysiert und die Bedeutung der Zusammensetzung des Spermaliquors an Elektrolyten und Nichtelektrolyten in echter oder kolloidaler Lösung für die Bewegung untersucht. Bei den eigenen Untersuchungen wurden erstmals die Beeinflussung der Bewegung von Hodenspermatozoen durch Änderung der Wasserstoffionenkonzentration, der Temperatur, des osmotischen Druckes und der ionalen Zusammensetzung geprüft und die Ergebnisse in ihren komplexen physiko-chemischen Zusammenhängen erörtert.

Die experimentellen Untersuchungen wurden nach Ausarbeitung einer besonderen Technik vorwiegend an Meerschweinchen sowie an Ratten und Hunden durchgeführt. Sie ergaben, daß für Hodenspermatozoen die optimalen Bedingungen des Medium zur Erzielung einer Bewegung von maximaler Qualität, Quantität und Dauer gegenüber denen für Nebenhoden und Ejakulatspermatozoen insbesondere bezüglich der Zusammensetzung an echt gelösten Stoffen und Kolloiden verschieden sind. Für jede der drei Entwicklungsstufen der Spermatozoen ist in strenger Abhängigkeit vom osmotischen und kolloidosmotischen Druck, der Wasserstoffionenkonzentration und der Temperatur für eine gute Beweglichkeit ein spezifisch aequilibriertes Medium notwendig. Nach Prüfung von 200 Lösungen zeigte sich die isotonische Ammoniumchloridlösung allen anderen überlegen. Mit dieser Lösung konnte erstmals bei Hodenspermatozoen eine Initialbewegung von der Intensität der Stufe (+)++7 unserer Einteilung (s.S. 8) erzielt werden. Die Bewegungsdauer wurde auf 56 Stunden erhöht. Eine gleiche Bewegungsdauer wie beim menschlichen Ejakulatspermatozoen konnte bei Hodenspermatozoen nicht erzielt werden, jedoch wurde eine weitgehende Annäherung erreicht. Bei Verwendung bestimmter Suspensionslösungen sind die Hodenspermatozoen verschiedener Säugetiere und des Menschen hinsichtlich der Qualität und Dauer ihrer Bewegung in vitro also überraschend leistungsfähiger, als es bis heute offenbar allgemein angenommen wird.

Inwieweit diese Ergebnisse Möglichkeiten zur Nachahmung des Nebenhodeneffekts eröffnen, wird unter anderem erst durch systematische Inseminationsversuche mit Hodenspermatozoen, die in den beschriebenen Lösungen suspendiert sind, beantwortet werden können.

Am Schluß der vorliegenden Arbeit möchte ich Herrn Privatdozenten Dr. R. D o e p f m e r vielmals für die Überlassung des Themas sowie seine wertvollen Ratschläge danken.

Gleichzeitig darf ich Herrn Professor Dr. H. S c h u e r m a n n für die freundliche Übernahme des Korreferates meinen besonderen Dank aussprechen.

Herrn Dr. K. G r e g o r c z y k danke ich für seine zahlreichen Hinweise vor allem bei der Durchführung der experimentellen Untersuchungen.

Literaturverzeichnis

ABDERHALDEN, E.: Handb. d. biologischen Arbeitsmethoden. Urban u. Schwarzenberg, Wien-Berlin, 1938.

ANDERSON, J.: The Semen of Animals and its Use for Artificial Insemination. Edinburgh, 1945.

ASDELL, S.A.: Brit. J. Exptl. Biol., 1, 473, 1924.

ASTBURY, W.T.: Science Progress, 133, 1, 1939 a.

ASTBURY, W.T.: Ann. Rev. Biochem., 8, 113, 1939 b.

ASTBURY, W.T.: Proc. Roy. Soc., London, S.B., 137, 40, 1950.

BALLWEG, B.: Untersuchungen über die Motilität und die Morphologie von Hodenspermatozoen von Bullen.- Dissertation Würzburg 1956.

BARRON, E.S.G.; SEEGMILLER, J.E.; MENDES, E.G.: Biol. Bul., 94,267, 1948.

BELONOSCHKIN, B.: Das Verhalten der Spermatozoen zwischen Begattung und Befruchtung bei Oktopus vulg. Ztschft. Zfschg.Mikr.Anat.,9, 663, 1929.

BELONOSCHKIN, B.: Beitrag zur Lebensdauer von Säugetierspermatozoen unter künstlichen Bedingungen. Z.f.Biol., 92, 542, 1932.

BELONOSCHKIN, B.: Der gegenwärtige Stand der Spermatozoenforschung. Arch.f.Gyn. 158, 345, 1934.

BELONOSCHKIN, B.: Biologie und Klinik der Spermatozoen. Arch.f. Gyn., 169, 151, 1939.

BELONOSCHKIN, B.: Verhalten der menschlichen Spermatozoen im weiblichen Organismus. Münch.Med.Wschr. 86, 847, 1939.

BELONOSCHKIN, B.: Biologie der menschlichen Spermatozoen im Hoden und Nebenhoden.

Arch.f.Gyn. 174, 357, 1942.

BELONOSCHKIN, B.: Arch.f.Gyn. 176, 135, 1948.

BELONOSCHKIN, B.: Zeugung beim Menschen. Sjöberg, Stockholm 1949.

BENOIT, R.: Recherches anatomique, Strassbourg, 1925.

BERG, O.E., HUGGINS, C. u. HODGES, C.V.: Concentration of Ascorbic Acid and the Phosphatases in Secretions of the Male Genital Tract. Am.J.Physiol.,133, 82, 1941.

BERNAL, J.D.: In Perspectives in Biochemistry. University Press, Cambridge, England, 1938, S. 45.

BERNSTEIN, J.: Untersuchungen zur Thermodynamik der bioelektrischen Ströme. I. Pfl.Arch., 92, 521, 1902.

BERNSTEIN, J.: Elektrobiologie, Braunschweig, 1912.

BLOM, E.: A one Minute Live - Dead Sperm Stain by Means of Eosin - Nigrosin. Fert.a.Ster., 1, II, 176, 1950.

BOEMINGHAUS, H.; BALDUS, U.:
Zur Physiologie der Samenblasen und Spermien. Z.f.Urol., 28,

BRETSCHNEIDER, W.: Dissertation, Universitätsklinik, Leipzig, 1936.

BRETSCHNEIDER, L.H. und VAN ITERSON, W.:
An electron-microscopical study of bull sperm (1). Proc.Kon.Ned.Akad.Wet., 50, Nos. 1 - 5, 88, Amsterdam, 1947.

BRETSCHNEIDER, L.H.: Die Morphogenese und Pathogenese der Spermien vom Stier I u. II. Kon.Ned.Akad.Wetensch.Proc. 58, No.4, C, 495, 1955.

CHANG, M.C.: Proc.Soc.Exptl.Biol.Med., 66, 51, 1947a.

CHANG, M.C.: Fert.u.Ster., 2, 205, 1951.

CHANG, M.C.: Science 401, 361, 1947 b.

CHANG, M.C. u. PINOUS, G.:
Physiol.Rev. 31, 1, 1951.

DELLINGER, O.P.: J.Morphol., 20, 170, 1909.

DOEPFMER, R.: Persönliche Mitteilung, 1954.

DOEPFMER, R.: Zur Kenntnis der Aspermie. Habilationsschrift, Würzburg 1955.

DOEPFMER, R.; FREIHOFF, W.:
Untersuchungen über die Motilität und "Lebensdauer" von Hodenspermatozoen. Kl.Wschr. 9/10, 275, 1956.

DUKES, H.H.: The Physiology of Domestik Animals. Ithaka, N.Y., 6. Aufl., 1947.

EBNER v., V.: Samenfäden und Samen als Ganzes. In: Köllikers, Hdb.d.Gewebelehre, 3, 425, 1902.

EDLBACHER, S.; LEUTHARDT, F.:
Lehrbuch der physiologischen Chemie. Berling 1954.

EDWARDS, J.: Proc.Roy.Sec., London, B 128, 407, 1940.

ENGELHARDT, V.A.: In: Advances in Enzymology, Vol VI., Interscience, New York, 1946, S. 147.

ENGELHARDT, V.A.; LJUBINOWA, M.N.:
Nature 144, 668, 1939.

ENGELMANN: Jenaische Ztschr.Med.Naturw.IV. 321.

EVANS, T.C.: Biol.Bull., 92, 99, 1947.

FENN, W.A.: Die Kontraktilität. In: Die Physikalische Chemie der Zellen und Gewebe. R. Hoeber, Bern 1947.

FLECKENSTEIN, A.: Der Kalium-Natriumaustausch als Energieprinzip im Muskel. Springer-Verlag, Berlin 1955.

FRANK, A.H.; SMITH, C.A. und EICHHORN, A.:
J. Amer.vert.med.Ass.99, 287, 1941.

GERKE, P.J.: Pulsationserscheinungen in Spermatozoen bei Angiostomum (Rhabdonema) nigrovenosum. Z.f.Zellfschg.u.mikr.Anat. 17, 471, 1933.

GEIGY, P.J.: Wissenschaftliche Tabellen 1952/53/54.

GELLHORN, E.: Beiträge zur vergleichenden Physiol.d.Spermatozoen. Pfl.Arch., 185,262, 1920.

GELLHORN, E.: Beiträge zur vergleichenden Physiol.d.Spermatozoen, Pfl.Arch., 193, 555, 1922a.

GELLHORN, E.: Befruchtungsstudien. Pfl.Arch., 196, 358, 1922b.

GELLHORN, E.: Befruchtungsstudien. Pfl.Arch., 200, 552, 1923.

GELLHORN, E.: Beiträge zur vergleichenden Physiol.d.Spermatozoen. Pfl.Arch., 216, 181, 1927.

GERHARTZ, H.: In: Hdb.d.Biochemie d.Menschen u.d.Tiere. C.Oppenheim, 6, 2.Auflage 1926.

GODLEWSKI, E.: Physiologie der Zeugung. In Hdb.d.vergl.Physiol. von H.Winterstein, 3, II, 457, 1910.

GODLEWSKI, E.: Probleme der Entwicklungserregung. In: Hdb.d. norm.u.path.Physiol.von 14, I, 114, Berlin 1926.

GOETZE, R.: Die Besamung und Unfruchtbarkeit bei Haussäugetieren. Schaper, Hannover 1949.

GRANZOW, J.: Biologische, serologische und pharmakologische Untersuchungen an den Spermien des Meerschweinchen und des Menschen. Arch.f.Gyn., 148, 149, 1932.

GRAY, J.: Elektrical Conductivity of Echinoderm Eggs and its Bearing on the Problems of Fertilisation and Artificial Parthenogenesis. Phil.Trans.Roy. Soc., London, 207, 481, 1916.

GRAY, J.: Effect of Ions upon Ciliary Movement. Quart.J. Micr.Sci., 64, III, 345, 1920 a.

GRAY, J.: The Reaktion of Spermatozoa to certain Elektrolytes II. Proc.Roy.Soc., London, 91, 147, 1920b.

GRAY, J.: The Mechanism of Ciliary Movement. Proc. Cambridge Phil.Soc., 20, 352, 1921.

GRAY, J.: The Mechanism of Ciliary Movement. Proc.Roy.Soc., London, 93, 104, 1922.

GRAY, S. u. HUGGINS, C; GREENWALD, J.: The presence of creatine in the testes of various invertebrates. The preparation of creatinephosphoric acid from the fishtestes. J.Biol.Chem., 162, 239, 1946.

GROSSE-SEGERATH, W.: Über die Dichte der Spermatozoen im Hoden und über die Gewinnungsmöglichkeiten der Hodenspermatozoen. Dissertation, Würzburg, 1956.

HAFFNER, F.: Über den Mechanismus von Hämolyse u.Agglutination durch Ionen. Pfl.Arch., 196, 1922.

HAMMOND, J.: The Effect of Temperature on the Survival in Vitro of Rabbit Spermatozoa obtained from the Vas deferens. Brit.J.Exptl.Biol., 7, 175, 1930.

HAMMOND, J. u. ASDELL, A.:
The Vitality of Spermatozoa in the male and female Reproduktive Trakts.Brit.J. Exptl.Biol., 4, 155, 1926.

HAYASHI, T.: Biol.Bull., 89, 162, 1945.

HAYASHI, T.: Biol.Bull., 90, 177, 1946.

HEINKE, E.: Vitalitätsprüfung menschlicher Spermatozoen durch Eosinfärbung. Z.f.Haut- u.Geschl. 10, 254, 1951.

HENLE, G. u. ZITTLE, C.A.:
Proc.Soc.Exptl.Biol.Med., 47, 193, 1941.

HENLE, G. u. ZITTLE, C.A.:
Am.J.Physiol., 136, 70, 1942.

HILL, A.V.: Muscular Activity. Williams and Wilkins, Baltimore 1926.

HILL, A.V.: The mechanism of muscular contraction. Physiol.Reviews, 2, 310, 1922.

HILL, A.V. a. HARTREE, W.:
Phil.Trans.Roy.Soc., B 210, 153, 1920.

HIROKAWA, W.: Über den Einfluß des Prostatasekretes u.d. Samenflüssigkeit auf die Vitalität der Spermatozoen, Bioch.Z., 19, 290, 1909.

HOEBER, R.: Die Physikalische Chemie der Zellen und Gewebe, 4. Aufl.1914, S. 485 u. 533.

HÖBER, R.: Physikalische Chemie der Zellen u.Gewebe. Stämpfli & Cie., Bern, 1947.

HÖBER, R. u. BONUS, G.M.:
Zur Theorie der sogenannten physiologischen Permeabilität der Zellen. Pfl.Arch. 201, 1923.

HÖBER, R. u. SCHÜRMEYER:
Ultramikroskopische Untersuchungen des Ionenantagonismus in Eiweißlösungen. Pfl. Arch., 214, 516, 1926.

HÖHNE u. BEHNE, K.: Über die Lebensdauer homologer und heterologer Spermien im weiblichen Genitalapparat und in der Bauchhöhle. Ztrbl.Gyn., 1, 5, 1914.

HOTCHKISS, R.A.: Fertility in Men. Lippincott Comp., Philadelphia, 1944.

HUGGINS, C.: Physiol.Revs., 25, 281, 1945.

HUGGINS, C. u. NEAL, W.:
J.Exptl.Med. 76, 527, 1942.

HUHNER: The Huhner Test J.Mount Sinai Hosp., 14, 387, 1947.

HUMPHREY, G.F. u. MANN, T.:
Biochem. J., 44, 97, 1949.

IWANOFF, E.E.: J.Agr.Soc., 12, 244, 1922.

IWANOFF, E.E.: De la fécondation artificielle chez les mammifères. Arch.Sci.biol., Paris, 12, 377, 1906.

IWANOFF, E.E.: Durée de conservation de la proprieté fécondatrice des spermatozoedes de mammifères dans l'epedidyme séparé de l'organisme. Compt.Rend.Acad.Sci.,Paris, 183, 456, 1926.

IWANOFF, E.E.: cit. b/ Doepfmer (1955).

IWANOFF, E.E.: Z. Zücht., 20, 404, 1931.

IWANOFF, E.E.: Biochem.Z., 278, 101, 1935.

IWANOFF, E.E.: Bull.Soc.chim.biol., 18, 1613, 1936.

IWANOFF, E.E.; KOSSVINA, B.S. u. FOMENKO, L.D.: Nature, 158, 624, 1946.

JAHNEC, F.: Über die Widerstandsfähigkeit menschlicher Spermatozoen gegenüber großer Kälte. Klin. Wschr., 17, 1273, 1938.

JOEL, C.A.: Studien am menschlichen Sperma. Schwabe & Co., Basel, 1953.

JOEL, C.A.; POLLAK, I.O.: Chemische Versuche mit menschlichen Spermien und ihre klinische Verwertung. Mschr.f.Geburtsh., 109, 91, 1939.

JOEL, C.A. u. TSCHUMI: Schweiz.Med.Wschr., 75, 358, 1945.

KAMYA. N.: In: The Structure of Protoplasm.Seifriz. W.A., Am.Soc.Plant.Physiol., Ames.Iowa, 1942, S. 199.

KATSCH, G.: In Abderhalden, E., Handb.der biol.Arbeitsmethoden, V. Urban u.Schwzbg. Wien-Berlin, 1938.

KATSUNUMA, S.: Intrazelluläre Oxydation und Indophenolblausynthese. Jena 1924.

KEHRER, E.: Ursachen und Behandlung der Unfruchtbarkeit. Steinkopf, Dresden, 1922.

KEILIN, D.: Proc.Roy.Soc.,London, 104, 206, 1925.

KEILIN, D.: Proc.Roy.Soc.,London, 106, 418, 1930.

KIMMIG, J.: In: Zentrale Steuerung der Sexualfunktionen des Menschen. Die Keimdrüsen des Mannes. Springer - Göttingen, Hdlbg., Berlin 1955, S. 185.

KNAUS, H.: Die Physiologie der Zeugung des Menschen. Maudrich, Wien 1954.

KÖLLIKER, A.: Physiologische Studien über die Samenflüssigkeit. Z.f.Zool., 7, 208, 1856.

KOHLRAUSCH, F.: Über die Temperaturkoeffizienten der Ionen in Wasser usw. Sitzungsber.d.Berl.Akad. 572, 1902.

KOLM, R.; PICK, E.P.: Über die Bedeutung des Kaliums für die Selbststeuerung des Herzens. Pfl.Arch., 185, 235, 1920.

KÜST: Die künstliche Besamung des Rindes. Berl. Tierärztl.Wschrift., 50, 805, 1936.

KUTSCHER, W. u. WOLBERGS, H.: Z.Physiol.Chemie, 236, 237, 1935.

LANDOIS-ROSEMANN: Lehrbuch der Physiologie. Urban & Schwzbg., Berlin, 1943.

LARDY, H.A.: In: Engl., E.T., Studies on Testis and Ovary, Eggs and Spermatozoa, Springfield III., 1952.

LARDY, H.A.; GHOSH, D.; PLAUT, W.E.: Science, 109, 365, 1949

LARDY, H.A., HANSEN, R.G. u. PHILLIPS, P.H.: Arch.Biochem., 6, 41, 1945.

LARDY, H.A. u. PHILLIPS, P.H.: The Interrelation of Oxydative and glycolytic Processes as sources of Energy for Bull Spermatozoa. Am.J.Physiol., 133, 602, 1941a.

LARDY, H.A. u. PHILLIPS, P.H.: Phospholipidsas a Source of Energy for Motility of Bullspermatozoa. Am.J.Physiol., 134, 542, 1941b.

LARDY, H.A. u. PHILLIPS, P.H.: J.Biol.Chem., 148, 333, 1943a.

LARDY, H.A. u. PHILLIPS, P.H.: J.Biol.Chem., 149, 177, 1943b.

LARDY, H.A. u. PHILLIPS, P.H.: Nature, 153, 168, 1944.

LARDY, H.A.,u. PHILLIPS, P.H.: Arch.Biochem. 6, 53, 1945.

LEBEDEVA, N.K.: Probl.Zivotn.Nr.4: 125, 1934, Abstrack in A.B.A., 3, 37, 1935.

LEHNARTZ, E.: Einführung in die chemische Physiologie. Springer, Berlin, 1948 u. 1952.

LEUTHARDT, F.; EDLBACHER, S.: Lehrbuch der physiologischen Chemie. Berlin 1952.

LEWIS, W.H.: In: The Structure of Protoplasm.Seifriz, W.A., Am.Soc.Plant, Physiol., Ames.Iowa, 1942, S.142.

LILLIE, R.S.: On the Effekts of various Solutions on Ciliary Movement in the Larvae of Arenicola and Polyordius. Am.J.Physiol.7, 25,1902.

LILLIE, R.S.: The Relation of Ions to contractile Processes I. Am.J.Physiol., 17, 89, 1906.

LILLIE, R.S.: Problems of Fertilisation. Chicago Univ. Press., Chicago, 1919.

LOEB, J.J.: Die chemische Entwicklungserregung des Eies, Berlin, 1909.

LOEB, J.: Untersuchungen über die künstliche Parthenogenese, Leipzig 1916.

LOEB, J.: Die Eiweißkörper, Springer, Berlin, 1924.

LUNDQUIST, F.: Nature, 158, 710, 1946.

LUNDQUIST, F.: Acta Physiol.Scand., 13, 322, 1947.

MAC LEOD, J.: Metabolism and Motility of Human Spermatozoa. In Engle, E.T., The Problem of Fertility. Princetown 1946.

MAC LEOD, J.: In: Engle, E.T., Studies on Testis and Ovary, Eggs and Spermatozoa. Springfield, III 1952, S. 123.

MAC LEOD, J.; GOLD, R.Z.: III. An Analysis of Motile Aktivity in The Spermatozoa of 1000 fertile Men and 1000 Men in infertile Marriage. Fert.Ster. 2, III, 1951.

MAC LEOD, J.; GOLD, R.Z.: J.Urol. 66, 436, 1951.

MAC LEOD, J. u. HOTCHKISS, R.S.: J.Urol., 48, 225, 1942.

MANN, T.: Studies on the Metabolism of Semen. 1.General aspects. Occurrence and distribution of cytochrome, certain enzymes and coencymes. Biochem.J., 39, 451, 1945a.

MANN, T.: Studies on the Metabolism of Semen 2.Glycolysis in Spermatozoa. Biochem.J., 39, 458, 1945b.

MANN, T.: Nature, 156, 80, 1945c.

MANN, T.: Studies on Metabolism on Semen. 3.Fruktose as a normal constituent of seminal plasma. Site of formation and funktion of fruktose in Semen. Biochem.J., 40, 481, 1946.

MANN, T.: Secretory Funktion of Seminal Vesicles. In: Conference on Inferility. Family Plaming Association, London, 1947, S. 38.

MANN, T.: J.Agr.Sci., 38, 323, 1948a.

MANN, T.: Lancet, 254, 446, 1948b.

MANN, T.: Metabolism of Semen. In: Advances in Enzymalogy, 9, 329, 1949.

MANN, T. u. LUTWAK-MANN, C.: Ann.Rev.Biochem., 13, 34, 1944.

MANN, T. u. LUTWAK-MANN, C.: Biochem.J., 43, 266, 1948.

MANTEGAZZA: Sullo sperma umano Reondiconti d.reale instituto Lombardo, Classe di Science matematiche e naturali. vol. 3, p. 183, 1866.

MANTEGAZZA: Sur la vitalité des Zoospermes de la Grenouille. Bruxelle, 1859.

MC CLEAN, D. u. ROWLANDS, J.W.: Nature, 150, 627, 1942.

METTENLEITER, M.: Sperma und künstliche Befruchtung bei Mensch und Tier. Arch.Gyn., 126, 251, 1925.

METZ, Ch.B., u. DONOVAN, J.E.: Adjuvant Action of Amino Acids and Peptides in Fertilizin Agglutination of Starfish Sperm.Science, 112, 755, 1950.

MEYER, K.H.: Biochem.Z., 214, 253, 1929.

MEYERHOF, O.: Die chemischen Vorgänge im Muskel. Springer Berlin 1930.

MILOVANOV, V.K.: Probl.Zivotn., No. 4, Abstrakt in ABA, 1, 153, 1933.

MILOVANOV, V.K.: Osnory iskusstvennogo osemenenija. (Prinzipien der künstlichen Insemination). Moskau-Leningrad 1934 (State Publishing House) Cit. b/ Anderson (1945).

MILOVANOV, V.K. u. SELIVANOVA, O.A.: Probl.Zivotn., No.2, 75, 1932. Abstract in A.B.A. 1, 53, 1933. cit. b/Anderson (1945).

MOENCH, G.L.: In: Biologie und Pathologie des Weibes. Hdb. Seitz-Amreich.Urban & Schwzbg. 1952. 2.Auflg.III. S. 307.

MOLLISON, T.: Die epigenetische Entwicklung des Arteiweißes in der Ontologie, Anthrop.Anz. 15, 2o5, 1939.

MOORE, B.H. und MAYER, D.T. und MC KENZIE, F.F.: Proc. Amer. Soc Anim. Prod, 33rd Anim. Meet., 210, 1940.

MURALT, A. v.: Zusammenhänge zwischen physikalischen und chemischen Vorgängen bei der Muskelkontraktion. Ergebn.d.Physiol., 37, 407, 1935.

NAGEL: Hdb.d.Physiologie, 2, 55, 1906.

PERLMANN, P.L.; LEONARD, S.L. und KURZROK, S.: Eudocrinology, 42, 26, 1948.

PETER, K.: Das Zentrum für die Flimmer- und Geißelbewegung. Anat.Anz. 15, 271, 1899.

PETERS, R.A.: In: Needham, J., Green, D.E.: Perspectives in Biochemistry, Cambridge, England, 1938.

PHILLIPS, P.H.; LARDY, H.A.; HEISER, E.E. und RUPPEL: Dairy Sci., 23, 873, 1940.

REDENZ, E.: Versuch einer biologischen Morphologie des Nebenhodens. Arch.mikr.Anat.Entw., 103, 593, 1924.

REDENZ, E.: Der Nebenhoden als morphologisches Problem. Verh.Anat.Ges., 34, 180, 1925 a.

REDENZ, E.: Die Bedeutung elektrolytarmer Lösungen für die Bewegung der Spermatozoen. Arch.mikr. Anat.Entw., 106, 290, 1925 b.

REDENZ, E.: Über die Wirkung des Spermins auf die Bewegung der Spermien. Pfl.Arch., 216, 605, 1927.

REDENZ, E.: Nebenhoden und Spermienbewegung. Würzburger Abh. a.G.Med., 24, 107, 1928.

REDENZ, E.: Das Verhalten der Säugetierspermatozoen zwischen Begattung und Befruchtung. Z.Zellfschg.Mikr.Anat., 9, 734, 1929.

REDENZ, E.: Über den Spaltstoffwechsel der Säugetierspermatozoen im Zusammenhang mit der Beweglichkeit. Biochem.Z., 257, 234, 1933.

REDENZ, E.: Form und Funktion des Nebenhodens einiger Elasmobranchier. Z.Zellfschg.Mikr.Anat., 9, 663, 1929.

REHFISCH: D.Med.Wschr. 11, 380, 1898.

REINLEIN, W.: Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen von menschlichen und tierischen Ejakulats- und Hodenspermatozoen. Dissert. Würzburg 1956.

REIS, J.: Enzymologia, 2, 183, 1937.

REIS, J.: Enzymologia, 5, 251, 1938.

REIS, J.: Bull.soc.chim.biol.,22, 36, 1940.

RETZIUS: Biol.Untersuchungen. Neue F. XIV, 150, Jena 1909.

ROEMMELE, O.: Biologische und physiologische Untersuchungen am Sperma u. am Scheidensekret des Rindes im Hinblick auf die künstl.Besamung. Zool.Jahrb.Abh.Allg.Zool., 44, 45, 1927.

ROHLEDER, R. Zeugung beim Menschen, Thieme, Leipzig, 1918.

ROSS, V.; MOORE, D.H. u. MILLER, E.G.jr.: J.Biol.Chem., 144, 667, 1942.

ROTHSCHILD, Lord: J.exptl.Biol. 25, 219, 1948.

ROTHSCHILD, Lord: J.exptl.Biol. 25, 344, 1949.

ROWLANDS, J.W.: Nature, 154, 332, 1944.

SAGUCHI, S.: Studies on Ciliated Celles. J.Morphol, 29, 218, 1917.

SARKAR, B.C.R.; LUECKE, R.W. und DUNCAN, C.N.W.: J.Biol.Chem. 171, 463, 1947

SCHAEFFER, A.A.: Ameboid movement. Princeton 1920.

SCHERSTEN, B.: Scand.Arch.Physiol., 58, 90, 1929.

SCHERSTEN, B.: Scand.Arch.Physiol., 74, suppl. 7, 1936.

SCHINZ, H.R. u. SLOTOPOLSKI, B.:
In: Abderhalden, E., Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, Urb.-Schwzbg. Abtlg. V, 529, Wien-Berlin 1938.

SCHLENK, W.jr., KAHMANN, H.:
Die chemische Zusammensetzung des Spermaliquors und ihre physiologische Bedeutung, Untersuchungen am Forellensperma. Biochem. Z., 295, 142, 1938.

SCHMIDT, W.J.: Die Bausteine des Tierkörpers in polarisiertem Lichte. Bonn 1924, S. 381.

SCHMIDT, W.J.: Die Doppelbrechung von Karyoplasma, Zytoplasma und Metaplasma. Berlin 1937.

SCHMIDT, O.: Über den Zeitpunkt des Absterbens der Spermatozoen bei Leichen. D.Z.Gerichtl.Med., 12, 290, 1928.

SEYMOUR, F.J., BENMOSHE, M.:
J.A.M.A., 116, 2489, 1941.

SIGLER, H.: Untersuchungen über die Motilität von Hodenspermatozoen an Bullen. Dissert.Würzbg., 1955.

SIMEONE, F.A.; YOUNG, W.C.: J.exptl.Biol. 8, 1931.

SPEK, J.: In: Hdb.norm.u.path.Physiol., VIII, (1), 33, 1925.

STEINHÄUSER, W.: Über das biologische Verhalten der Spermien. Monatsschr.Geburtsh., 63, 146, 1923.

STEUDEL: Physikalische u.chem.Eigenschaften d.Spermas u.de.Eisubstanzen nebst dem Umbau von Körperorganen in Generationsorgane. In: Hdb.norm. .path.Physiol., XIV, (1), 156, 1926.

STIEVE, H.: Männliche Geschlechtsorgane. In: Hdb.Mikr. Anat.d.Menschen, VII, Springer 1930.

STIGLER, R.: Wärmelähmung u.Wärmestarre menschlicher Spermatozoen. Pfl.Arch. 155, 201, 1914.

STIGLER, R.: Der Einfluß des Nebenhodens a.d.Vitalität der Spermatozoen. Pfl.Arch., 171, 273, 1918.

STRIETMANN, W.H. und FISCHER M.H.:
Über die Kontraktilität von Katgut u.d. Theorie d.Muskelkontraktilität. Z.Chem. Indust.d.Kolloide, 10, 65, 1912.

SWYER, G.J.M.: Biochem.J., 41, 409, 1947a.

SWYER, G.J.M.: Biochem.J., 41, 413, 1947b.

SZENT - GYÖRGYI, A.: Enzymologia, 9, 98, 1940.

SZENT - GYÖRGYI, A.: Chemistry of Muscular Contraction, N.Y.1951.

THEIN, G.: Experimentelle Untersuchungen über die Motilität und sogenannte Vitalität an menschlichen Spermien. Dissert.Wzb.1956. Gyn.et obst etr., 36, 544, 1934.

TRENDELENBURG, P.: Hdb.d.exptl.Pharm., v.Heffter, A., I, 470, 1926.

TOSIC, J.: Nature, 159, 544, 1947.

TOSIC, J.; WALTONS, A.: Nature, 156, 507, 1945.

TYLER, A.: Physiol.Revs., 28, 180, 1948.

TYLER, A.; ATKINSON, E.: Prolongation of Fertilizing Capacity of Sea-Urchin Spermatozoa by Amino-Acids. Science, 112, 783, 1950.

TYLER, A.; ROTHSCHILD Lord: Metabolism of Sea-Urchin Spermatozoa and Induced Anaerobic Motility in Solutions of Amino-Acids. Proc.Soc.Exptl.Biol.Med. 76, I, 52, 1951.

ULICH, H.; JOST, W.: Lehrbuch der physik.Chemie.Steinkopff, Darmstadt, 8. Aufl. 1955.

URAMOTO, S.: On the Influence of Organ Extracts Body Fluids and Solutions of Salts of heavy Metals on the Life-Duration of Sperm. Acta Scholae Med.Kioto, 5, H1.

VAN DENMARK, N.L.; HAYS, R.L.: Rapid Spermtransport in the Cow.Fert.a. Ster., 5, 131, 1954.

VAN DENMARK, N.L.; SALISBURY, G.W.: J.Biol.Chem., 156, 289, 1944.

VOSS, H.: Der mikrochemische Nachweis oxydativer Fermente in den Spermatozoen des Menschen Arch.Anat.Entw., 96, 1922.

VOSS, H.: Gibt es einen durch das x-Chromosom bedingten Spermiendimorphismus? Zschft.Anat. Entwg., 91, 618, 1930.

WAGENSEIL, F.: Z.Morph.u.Anthrop., 26, 264, 1927.

WALLENFELS, K.: In: Die Sexualität des Menschen. V.H.Giese; Enke, Stuttgart 1955. S. 153.

WALTON, A.: Brit.J.Exptl.Biol., 11, 96, 1924.

WALTON, A.: The relations between density of Spermsuspensions and fertility as determined by artificial inseminations of rabbits. Proc. Roy.Soc., London, 101, 303, 1928.

WALTON, A.: The effect of Temperature on the survival in vitro of rabbit Spermatozoa obtained from the vas deferens. Brit.J.of Exptl. Biol. 7, 201, 1930.

WALTON, A.; HAMMOND, J.; ASDELL, S.A.: Verhdl.I.intern.Kongr.Sexualfschung. 2, 217, 1928.

WAJZER, J.; BROCHART, M.: Présence de la phosphoarginine dans les Spermatozoides de Mammifères. Comp.Rend. Séances de l'Acad.d.Sci., 225, 965, 1947.

WEIL, A.: Die chemischen Grundlagen der Spermatozoenbewegung. Arch.Frauenhlk.u.Eugenik, 7, 238, 1921.

WINBERG, H.: Arkiv, Kemi, Mineral., Geol., 15, B, 1, 1941.

WÖHLISCH, E.: Muskelphysiologie vom Standpunkt der kinet. Theorie der Hochelastizität und der Entspannungshypothese des Kontraktionsmechanismus, Naturw., 305, 1940.

WÖHLISCH, E.: Morphologie und Mechanik der Muskelfaser, Kolloid-Z., 95, 296, 1941.

WOLL, H.: Zur Frage der "Lebensdauer" menschlicher und tierischer Spermatozoen in vivo, in vitro u.post mortem. Dissert.Wzbg., 1955.

YAMANE; YINSHIN: Studien über physikalische und chemische Beschaffenheit des Pferdespermas mit besonderer Berücksichtigung der Physiologie der Spermatozoen. Hokkaido Imperial Univers., Vol.IX, Sapporo 1921.

YOCHEM, D.G.: Spermatozoan life in the female reproduktive trakt of guinea-pig and rat.Biol.Bul., 56, 274, 1929.

YOUNG, W.C.: A Study of The Funktion of Epididymis, The Importance of an Aging Process in Sperm for The Length of The Period. J.Morph. Physiol., 48, 475, 1929.

YOUNG, W.C.: A study of the funktion of epididymis. J.Exptl.Biol., 8, 131, 1931.

YOUNG, W.C.; SIMEONE, F.A.: Proc.Soc.Exptl.Biol.Med., 27, 838, 1930.

ZELLER, W.A.: Helv.Chin.Acta., 24, 117, 1941.

ZIMMET, D., SAUSER-HALL,P.: Compt.rend.soc.biol., 123, 548, 1936.

ZIMMET, D., SAUSER-HALL,P.: Compt.rend.soc.biol., 130, 1476, 1939.

ZITTLE, C.A., ZITIN, B.: J.Biol.Chem., 144, 99, 1942.

ZUNTZ, L.: In: Hdb.d.Biochem.d.Menschen u.d.Tiere.V. 6, 2. Aufl. 1925.

Lebenslauf

Am 5.3.1929 wurde ich als Sohn des Maschinensteigers Wilhelm Freihoff und seiner Ehefrau Änny, geb. Villis, in Castrop Rauxel in Westfalen geboren. Dort besuchte ich die Volksschule von 1936 bis 1940 und bis 1941 die Oberschule für Jungen. Von 1941 war ich Schüler der Hittorf-Oberschule zu Recklinghausen, 1943 bis 1945 Schüler der Castrop-Rauxeler Oberschule zu Schneidemühl in Pommern. Von 1946 an besuchte ich das Naturwissenschaftliche Hittorf-Gymnasium in Recklinghausen, wo ich im Frühjahr 1950 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1950/51 begann ich an der Julius - Maximilians-Universität das Medizinstudium und im Sommersemester 1951 das Studium der Zahnheilkunde. Im April 1953 bestand ich das zahnmedizinische und im Oktober 1953 das ärztliche Vorexamen. Am 16.3.1956 beendete ich das zahnmedizinische Staatsexamen.

Die Arbeiten zu dieser Dissertation begann ich im Oktober 1954 und beendete sie im Oktober 1956.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine anderen Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Wilhelm Freihoff

RUDOLF BAEHR DRUCK- UND WERBETECHNIK
WÜRZBURG EGLOFFSTEINSTR. 5